

Debreceni Orvostudományi Egyetem

I. sz. Belgyógyászati Klinika

IDŐS, EGÉSZSÉGES EMBEREK KORRAL JÁRÓ
ELVÁLTOZÁSAI ÉS AZOK REGULÁCIÓS MECHANIZMUSA

Kandidátusi értekezés

Dr. Fülöp Tamás Jr.

Debrecen

1985

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

TARTALOMJEGYZÉK

	oldal
Rövidítések	
1. Bevezetés	1.
2. Irodalmi áttekintés	4.
2.1. Az öregedés elméletei	4.
2.1.1. Az öregedés, mint intrinzik folyamat	5.
2.1.2. Az öregedés, mint döntően extrinzik folyamat	6.
2.1.3. Az öregedés átfogóbb elméletei	7.
2.2. Az idős korral járó funkcionális elváltozások	11.
2.2.1. Lipidek, szénhidrát anyagcsere és biokémiai paraméterek változásai a korral	11.
2.2.2. A nyomelemek változásai a korral	13.
2.2.3. A testösszetétel változása a korral	14.
2.2.4. Az endokrin rendszer változásai időskorban	17.
2.2.5. Az immun rendszer változásai a korral	19.
2.2.5.1. Humorális immunitás	20.
2.2.5.2. Celluláris immunitás	21.
2.2.5.3. Monocita-makrofág rendszer	23.
2.2.5.4. Polimorfonukleáris granulociták	23.
2.2.6. A szabadgyök képzés változása a korral	24.
2.2.7. A ciklikus nukleotidák változásai a korral	26.
2.2.8. A Ca^{2+} metabolizmus változásai a korral	27.
2.2.9. A receptorok működésének változása a korral	29.

	oldal
3. Célkitűzések	32.
4. Anyag és módszer	34.
4.1. A vizsgálatba bevont személyek	34.
4.2. Vizsgálati módszerek	37.
4.2.1. Lipid meghatározások	37.
4.2.2. Glukóz meghatározás és orális glukóz tolerancia teszt	37.
4.2.3. Hormon meghatározások	38.
4.2.4. Biokémiai meghatározások	38.
4.2.5. Vízter multiizotópos meghatározása	39.
4.2.6. Nyomelemek meghatározása	40.
4.2.7. Sejtek előkészítése a vizsgálatokhoz	41.
4.2.7.1. Monocita szeparálás	41.
4.2.7.2. Granulocita szeparálás	41.
4.2.7.3. Limfocita szeparálás	41.
4.2.7.4. ⁵¹ Cr-humán vörösvérsejtek (HVVS) előkészítése	41.
4.2.8. Fcγ receptor (FcγR) által közvetített funkciók mérése	42.
4.2.8.1. Fagocitózis mérése monocita FcγR-on keresztül	42.
4.2.8.2. Monocita ADCC meghatározás	43.
4.2.8.3. Fagocitózis mérése granulocita FcγR-on keresztül	44.
4.2.8.4. Granulocita ADCC meghatározás	44.

	oldal
4.2.8.5. Granulocita intracelluláris killing meghatározás	45.
4.2.9. Fagocitózis élesztő sejtekkel történő mérése	45.
4.2.10. Oxidációs folyamatok mérése	45.
4.2.10.1. Kemilumineszcencia mérése	46.
4.2.10.2. O_2 fogyasztás	46.
4.2.10.3. Superoxid termelésének mérése	46.
4.2.10.4. H_2O_2 termelésének mérése	47.
4.2.10.5. Glutation peroxidáz (GSHPx) aktivitás mérése	47.
4.2.10.6. Glutation reduktáz aktivitás mérése	47.
4.2.10.7. Redukált és oxidált glutation mérése	48.
4.2.11. Intralizoszómális enzimek kiáramlásának mérése	48.
4.2.11.1. Kísérleti körülmények	48.
4.2.11.2. β glükuronidáz aktivitás mérése	48.
4.2.11.3. Elasztáz aktivitás mérése	49.
4.2.11.4. Laktát dehidrogenáz (LDH) aktivitás mérése	49.
4.2.11.5. LDL szeparálása	49.
4.2.12. ABNA fluorogén szubsztráttal való enzim aktivitás mérése	49.
4.2.13. Intracelluláris cAMP és cGMP szintek mérése	50.
4.2.14. ^{45}Ca transzport mérése	51.
4.2.14.1. ^{45}Ca beáramlás mérése	51.
4.2.14.2. ^{45}Ca kiáramlás mérése	51.
5. Eredmények	53.
5.1. Lipidek és szénhidrát anyagcsere	54.
5.1.1. Lipid paraméterek	54.

	oldal
5.1.2. Glukóz anyagcsere és inzulin szekréció	55.
5.2. Hormonok	57.
5.3. Általános biokémiai, hematológiai, enzim és fehérje paraméterek	57.
5.3.1. Anorganikus elemek	58.
5.3.2. Hematológiai paraméterek	58.
5.3.3. Májenzimek	58.
5.3.4. Fehérje anyagcsere paraméterek	59.
5.3.5. Immunparaméterek	60.
5.4. Nyomelemek	61.
5.5. Testösszetétel	61.
5.6. A granulociták AtII receptorainak működése	64.
5.6.1. Adenilát cikláz gátló aktivitás	64.
5.6.2. Angiotenzináz aktivitás	66.
5.7. A fagocitarendszer effektor funkciói	68.
5.7.1. A monociták effektor funkciói	68.
5.7.2. A granulociták effektor funkciói	69.
5.8. Oxidatív metabolizmus	70.
5.8.1. Nyugvó granulociták oxidatív metabolizmusa	70.
5.8.2. Stimulált granulociták oxidatív metabolizmusa	71.
5.9. A granulociták intralizoszómális enzim aktivitása	73.
5.9.1. A granulociták β glükuronidáz aktivitása	74.
5.9.2. A granulociták elasztáz aktivitása	74.
5.10. A receptorok működésének vizsgálata	75.
5.10.1. Ca^{2+} transzport	76.

	oldal
5.10.2. Ciklikus nukleotidák	78.
5.10.3. Opioid receptor modell komplex vizsgálata	79.
6. Eredményeink rövid összefoglalása	84.
6.1. Zsíranszagcsere	84.
6.2. Szénhidrát anyagcsere és inzulin szekréció	84.
6.3. Hormon paraméterek	84.
6.4. Biokémiai és hematológiai paraméterek	84.
6.5. Nyomelemek	85.
6.6. Testösszetétel alakulása	85.
6.7. Monocita és granulocita $Fc\gamma R$ közvetített funkciók	86.
6.8. Oxidatív metabolizmus alakulása	87.
6.9. Intralizoszómális enzimek kiáramlásának mérése	87.
6.10. Receptorok működésének vizsgálata a korral	88.
7. Eredmények értékelése a regulációs mechaniz- musok tükrében	91.
8. Eredmények összegzése	107.
9. Köszönetnyilvánítás	110.
Irodalomjegyzék	I.

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

a	albumin
ABNA	L-alanil β naftilamid
ACTH	adrenokortikotrop hormon
ADCC	antitest függő sejtes citotoxicitás (antibody dependent cellular cytotoxicity)
ADH	antidiuretikus hormon
AP	alkalikus foszfatáz
C ₃	C ₃ komplement
CIC	keringő immunkomplexek
Con A	Concanavalin A
DG	diacilglicerol
DMSO	dimethylsulfoxide
EACA	epsilon-amino-kapron-sav
ECV	extracelluláris volumen
FPML	f Met-Leu-Phe (N-formyl-methionyl-leucyl-phenyl alanine)
FT ₃ I	szabad tiroxin index (free thyroxine index)
γ GT	gamma glutamil transzpeptidáz
GFR	glomeruláris filtrációs ráta
GR	glutation reduktáz
GSH	redukált glutation
GSHPx	glutation peroxidáz
GSSG	oxidált glutation

HBSS	Hank's balanced salt solution
HDL-chol	high-density-lipoprotein-cholesterol (nagy sűrűségű lipoprotein)
HGH	növekedési hormon
ICV	intracelluláris volumen
IgA	immunglobulin A
IgG	immunglobulin G
IgM	immunglobulin M
IRI	immun reaktív inzulin
ISV	intersticiális volumen
KE	kicserélhető kálium
LaCl ₃	Lantan chlorid
LBM	zsírmentes testsúly
LDL	low density lipoprotein (alacsony sűrűségű lipoprotein)
LDL-chol	low density lipoprotein cholesterol
LDH	tejsav dehidrogenáz
MCH	mean corpuscular hemoglobin (vvs átlagos hemoglobin tartalom)
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration (vvs átlagos hemoglobin koncentráció)
MCV	mean corpuscular volume (átlagos vvs térfogat)
Met-enk	Met-enkefalin
NaE	kicserélhető nátrium
p	pus
PDE	foszfodieszteráz

PMA	phorbol myristate acetate
PMNLs	polimorfonucleáris granulocita
PTH	parathormon
PRA	plazma renin aktivitás
Ptd Ins 4,5 P ₂	Phosphatydyl Inositol Di Phosphat
Ptd Ins 1,45 P ₃	Phosphatydyl Inositol Tri Phosphat
PV	plazma volumen
RCM	vörösvérsejt maseza
Ri	inhibitor GTP binding protein
Rs	stimuláló GTP binding protein
rT ₃	reverse trijódtironin
s	sachar
SGOT	serum glutamát-oxálacetát-transzamináz
SGPT	serum glutamát-piruvát-transzamináz
SOD	superoxid diszmutáz
T ₃	trijódtironin
T ₄	tiroxin
TBW	egésztest víz mennyiség
Tg	triglicerid
TRH	thyreotrop hormon releasing faktor
TSH	thyreotrop hormon
T ₃ U	trijódtironin felvétel (T ₃ uptake)
VLDL	very low density lipoprotein (nagyon alacsony sűrűségű lipoprotein)
TBV	teljes vér volumen

1. BEVEZETÉS

Az öregedés és ami ezzel jár, az elmúlás, azóta foglalkoztatja az embert, amióta létezik. Az élet már kezéskor magában hordozza az öregedést és az elmúlást, ezt mindannyian jól tudjuk, de mint Gilgames mondja "Be szeretném bizonyítani, hogy amit az Istenek meghatároztak, nem megváltozhatatlan" (Walford, 1983).

Ez lehetne a mottója minden gerontológiával foglalkozó tudósnek, szociológusnak, orvosnak. Az öregedés nem fatalitás, amit el kell viselni, hanem olyan folyamata az életnek, melyet meg kell ismerni és azután a legjobb tudásunk szerint befolyásolni.

A gerontológiai kutatások nagy múltra és sok kétkedésre tekintenek vissza. Azt mondhatjuk, hogy végeredményben meg kellett küzdeniük azon filozófusok, művészek és tudósok apologetikus magatartásával, akik évszázadokon keresztül megpróbáltak érveket találni az öregedés folyamatának elkerülhetetlenségére. Ehhez a legjobb segéderő mindig is az egyház volt, mely az öregedést, a halált büntetésnek, illetve egyfajta állomásnak tekintette a pokol, illetve mennyország előtt. A művészek is hozzájárultak ehhez, de leginkább a filozófusok, mint Aristoteles, Epicuros és olyan tudósok, mint Galilei, Malthus, Cardan. Ugyanakkor mindig voltak felvilágosult elmék, akik hír-

dették, hogy az élettartam meghosszabbítható és az öregedés nem szinonimája a csúnyaságnak, a betegségnek és a tehetetlenségnek. Ezek közül megemlíthetnénk, Descartes-ot, Francis Bacon-t, vagy Paracelsus-t, aki a középkor egyik legnagyobb orvosa és tudósa volt, majd a közelebbi időkből Charcot-t, akit a geriátria első nagy képviselőjének tartanak. Ő adta meg a modern geriátria és gerontológia irányát a "Leçon sur les maladies séniles et chroniques" című 1867-ben publikált könyvében:

1. megkeresni az öregedés alapvető okait, illetve a miértjét;
2. leírni az öregedés megnyilvánulásait, a szervek változásait, a fiziológiáját ... röviden, meghatározni az öregedés folyamatát, ahogyan az valójában végbe megy és kihangsúlyozni az öregedés betegségeit.

Ezek az elvek ma is érvényben vannak, mivel bármily nagy utat tett is meg a gerontológia az idők sötétjéből napjainkig, még igen keveset tudunk arról, hogy mi is az öregedés, mi az öregedéssel járó betegségek oka, hogyan lehet ezeket gyógyítani és főleg hogyan lehet mindezeket megelőzni.

A geriátriával először a genfi geriátriai kórházban kerültem személyesen kapcsolatba, ahol medikusként dolgoztam. Igen nagy benyomást tett rám az öregekkel való találkozás, és alapjában véve meghatározta indíttatáso-

mat az orvosi pályán.

Gerontológiai-geriátriai kutatásaim érdemi megkezdéséhez az egyetem befejezése és hazajövetelem után, a Debreceni Orvostudományi Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikáján nyíltak számomra lehetőségek.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az utóbbi évtizedekben a gerontológia tért hódított magának az élenjáró kutatások között, bár még mindig nem kapta meg mindenhol azt a helyet, ami fontosságából és nem utolsósorban az eddig elért eredményeiből adódóan megilleti.

2.1. Az öregedés elméletei

Talán nincs a biológiának még egy ága, ahol annyi elméleti fejtegetés létezne, mint a gerontológiában, amelyben mintegy 200 kisebb-nagyobb öregedési teóriát tartanak számon. Ez nemcsak a kérdés komplex voltát bizonyítja, hanem azt is jelzi, hogy az öregedés biológiai, celluláris, molekuláris folyamatának megértése és átfogó jellemzése még megoldandó feladat. A fennálló teóriák egyik általános jellemzője a mobilitás abban az értelemben, hogy egyik sem tekinthető lezártnak. A végkonklúzióban azonban mindegyik megegyezik: az öregedés nem más, mint a szervezet alkalmazkodó képességének csökkenése, illetve hiánya a kor előrehaladtával.

A nagyszámú elmélet véleményünk szerint három nagy csoportba sorolható annak megfelelően, hogy az öregedési folyamatot

- elsődlegesen intrinzik folyamatnak;
- döntően extrinzik faktorok által determináltak tekinteti, illetve
- átfogóbb igényrel, kísérletekkel alátámasztva dinamikus képet kíván adni az öregedésről.

2.1.1. Az öregedés, mint intrinzik folyamat

Az ide sorolható elméletek abból a feltevésből indulnak ki, hogy az öregedés szabályozása a DNA-makromolekulán keresztül történik és a gén aktivitás eleve egy meghatározott idő szerint van programozva. Tehát az öregedés egy intrinzik folyamat, ami a gének programozásától függ és a külső tényezőktől függetlenül is végbemegy. Az egyik ilyen elmélet a genetikai program elmélet, melynek fő képviselője Comfort (1964, 1970), aki szerint a szervezetnek meghatározott sorrendben különböző anyagcsere- és fejlődési folyamatokon kell keresztül mennie. Az áthaladás üteme voltaképpen az élettartamot határozza meg. Ezt az elméletet támasztja alá a Hayflick féle teória is (1966, 1975), mely szerint a sejtek csak bizonyos határig képesek osztódni, és ezután elpusztulnak. Ehhez az elmülethez kapcsolódik továbbá a transzkripció elmélet (Hahn, 1966) és a transzláció elmélet (Strehler, 1969; Hayflick, 1975), melyek a genetikai kód érvényesülésének romlásában vélnek felfedezni az öregedés okát.

2.1.2. Az öregedés, mint döntően extrinzik folyamat

Más teóriák az öregedést extrinzik faktorokkal próbálják magyarázni, ami nem azt jelenti, hogy tagadnák a genetikai determináltság jelentőségét, de a hangsúlyt más biológiai és biokémiai folyamatokra helyezik. Ezen teóriák egyike a keresztkötés elmélet, mely szerint a kor előrehaladtával két vagy több makromolekula (fehér-jék) között fokozatosan harántkötések keletkeznek (Bjorksten 1974) és ezek megbénítják a sejtek működését. Ehhez kapcsolódik a kollagén elmélet azzal a feltételezéssel, hogy a korral a kollagén felszaporodik és harántkötések keletkeznek. A harántkötések a kollagén rostok kontrakcióját idézik elő és lehetetlenné teszik a szövetek normális működését (Verzár 1955, 1956, 1960). Hazánkban Banga és mtsai (1956) foglalkoztak ezzel a kérdéssel és a kollagén elméletet kísérleti adatokkal gyarapították. A hibakatasztrófa elmélet fő képviselője Orgel (1963). Az elmélet lényege, hogy a fehérje szintézis folyamatai pontatlanul mennek végbe és ez olyan fehérjéket is érint, amelyek más fehérjék képzéséért felelősek. Ezáltal az újonnan képződött fehérjék hiba-gyakorisága exponenciálisan megnő. A redundancia elmélet (Medvedev 1972) szerint, ha az expresszált génekkel baj van, szerepüket a represszált gének veszik át és ha erre már nem képesek, akkor kezdő-

dik az öregedés. A mutációs elmélet (Curtis és mtsai 1958, Failla 1958, Szilárd 1959) az öregedést a sejtekben felgyülemelő genetikai hibák gyakoriságával és az ezeket kijavító rendszerek működésének korral történő csökkenésével magyarázza. Az élet-ütem elmélet az anyagcsere forgalom növekedését teszi felelőssé az öregedésért (Pearl 1928). Ezt a feltételezést McCay és mtsai (1935) és Berg (1976) kutatásai látszanak alátámasztani. A stressz elmélet - mint az előbbi - szélesebb értelemben kapcsolódik a neuroendokrin elmélethez. A stressz elmélet lényege, hogy az élet során a stressz okozta káros hatások felhalmozódnak és az öregedéshez vezetnek (Selye és mtsai 1956, 1960, 1976, Árvay 1976, Gunderson és mtsai, 1974). Közös az előbbi két elméletben, hogy az idős szervezet adaptációja a környezeti ártalmakra csökken, ami tovább fokozza az öregedést.

2.1.3. Az öregedés átfogóbb elméletei

Az eddigiekben áttekintett elméletek csupán részleges magyarázatát adják az öregedésnek. Van viszont véleményünk szerint három olyan elmélet, amelyek mindegyike átfogóbb, számos kísérleti adattal alátámasztott, dinamikusabb képet ad az öregedés folyamatairól. Továbbá ezek az elméletek az egyesítés igényével kapcsolódnak a már említett teóriákhoz.

Immunológiai elmélet

Az alapelmélet Walford-tól (1969) származik, melyet Burnet (1970) fejlesztett tovább. Lényege, hogy a szomatikus mutációk megváltoztatják a szervezet "saját" felismerését, és ez a kor előrehaladásával az autoimmun folyamatok gyakoribbá válásához vezet. Megváltozik egyben az immunrendszer "felügyeleti" mechanizmusa is, ami a fertőző betegségek és tumorok előfordulásának gyakoriságát növeli idős korra. A T és B limfociták együttműködése genetikai kontroll alatt áll (Pl. HLA) és bizonyos funkciók fokozódását vagy szuppresszióját segíti (McDevitt és mtsai 1969, Walford 1970, Dausset 1977). Burnet (1973) továbblépett úgy, hogy az immunológiai elméletbe beépítette az Orgel és a Kanungo (1977) féle elméleteket. Az immunológiai elmélet más képviselői a timuszt - mint öregedési "ütemezőt" (aging clock) - teszik felelőssé az öregedésért a celluláris immunitás csökkenésén keresztül (Greenberg és mtsai 1972).

Szabadgyök elmélet

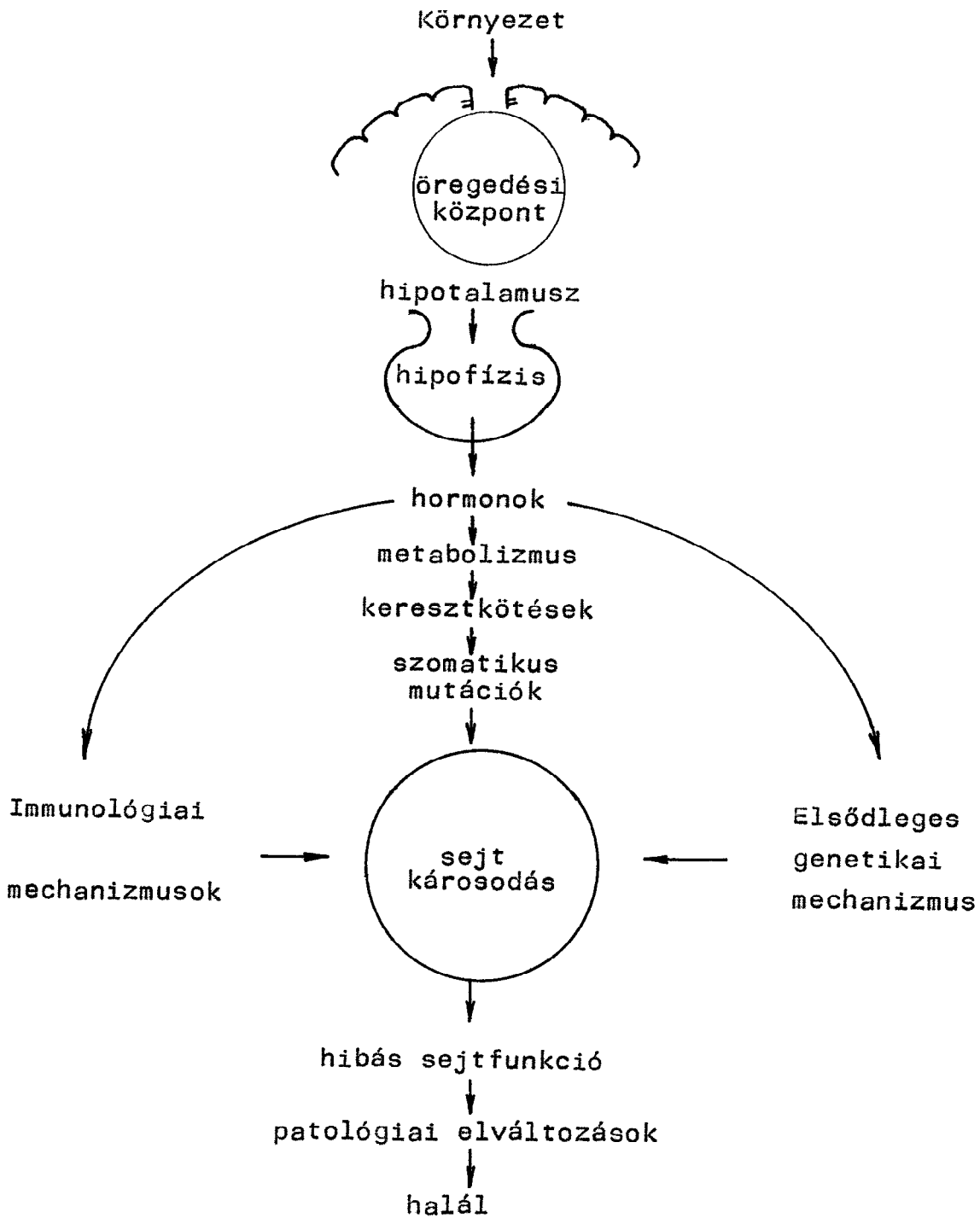
A Harman féle (1956, 1962) szabadgyök elmélet - melynek egyik képviselője hazánkban Zs.Nagy (1979) - arra épül, hogy a szervezetnek a megélhetéshez O_2 -re van szüksége, de ennek a bontási termékei, az ún. szabadgyökök (O_2^- , H_2O_2 , OH^- , "singlet oxygen") mégha oly hasznosak is

a szervezet számára (fertőzések és tumorok elleni védekezés), hosszú távon felhalmozódnak és a detoxifikáló mechanizmusok (SOD, kataláz, GSHPx, Vit E, Vit C, stb) feltételezett csökkenése miatt károsítják a sejtmembránt, valamint az intracelluláris összetevőket (lipid peroxidáció, enzimek inaktiválása, stb.). A szabadgyökök felszaporodása nemcsak intracellulárisan okoz károsodást, hanem az egész szervezetet is veszélyezteti, mivel közrejátszik az immunválasz csökkenésében (Harman és mtsai 1977), szerepe lehet továbbá az arterioszklerózis kialakulásában (D'Angelo és mtsai 1978, Pace-Asciak és mtsai 1978, Doni és mtsai 1983) is. Így a szabadgyökök felszaporodása számos következménnyel jár a sejt és a szervezet számára, elősegítve, illetve előidézve ezek öregedését (Leibovitz 1980).

Neuroendokrin pészmekei elmélet

A neuroendokrin pészmekei elmélet (Everitt 1973, 1980, Samojarski 1977) szerint a neuroendokrin rendszer a hipotalamuszon keresztül szabályozván az élet alapvető funkcióit, meghatározza az öregedést és annak ütemét. Ez az elmélet a neuroendokrin rendszer diszfunkcióját teszi felelőssé más rendszerek (pl. immunrendszer) működésének megváltozásáért is, tekintet nélkül arra, hogy a diszfunkció a genom vagy a környezeti ártalmak által meghatározott (1. ábra).

1. ábra: Neuroendokrin rendszer és az öregedés kapcsolata



Everitt alapján

Az öregedési elméletek sokasága tükrözi, hogy mennyire nincs egységes fogalmunk az öregedésről. A maga nemében valószínűleg mind igaz, mégha csak részben ad is magyarázatot az öregedésre.

2.2. Az idős korral járó funkcionális elváltozások

Az öregedés okától függetlenül közismert, hogy a szervezet számos funkciója megváltozik, illetve romlik a korral (Masoro és mtsai 1982). Ezek a változások, ha önmagukban még nem is kórosak, a szervezet alkalmazkodó képességét mindenesetre csökkenthetik. Tehát az egyik legalapvetőbb kérdés, hogy az olyan egészséges idős emberek-nél, akiknél a fiziológiás öregedésen kívül semmiféle konkrét betegség nem mutatható ki, mi változik a korral és miért. Ilyen homogén populáción mindezidáig igen kevés komplex jellegű vizsgálat történt. A következőkben az idős korral járó változásokra vonatkozó - témánkhoz kapcsolódó - irodalmi adatokat rendszerezve kíséreljük meg áttekinteni.

2.2.1. Lipidek, szénhidrát anyagcsere és biokémiai paraméterek változásai a korral

Ma már nem fér kétség ahhoz, hogy a lipidek változásai hozzájárulnak egyes degeneratív betegségek kialakulásához, melyek közül az egyik legfontosabb az arterio-

szklerózis. A lipideken belül is kiemelkedő szerepet játszik a koleszterin, illetve ennek összetevői: a HDL-chol (amely koronaria protektív) és az LDL-chol (mely aterogen) (Lackó és mtsai 1984, Gordon és mtsai 1977, Klorfajn és mtsai 1978, Nicholson és mtsai 1979). A koleszterin szintje a korral nő (McDonagh és mtsai 1981), és a főbb összetevőinek megoszlása is megváltozik (Nicholson és mtsai 1979), viszont idős és nagyon idős (80+x éves) egyedek esetében a legtöbb tanulmány a lipid paraméterek relatíve alacsony értékéről számol be mintegy jelezvén, hogy csak azok érik meg ezt a kort, akiknek a lipid értékei alacsonyak (McDonagh 1981). Felvetik azt a kérdést is, hogy érdemes-e az idősök (60+x évesek) lipid paramétereit mérni (Turpin 1982), illetve milyen jelentőséget kell ezeknek tulajdonítani (Framingham study: Gordon és mtsai 1977).

A szénhidrát tolerancia csökken a korral, mint azt a Davidson (1979) és DeFronzo (1981) által ismertetett átfogó munkák is alátámasztják. Mások viszont vitatják ezt a csökkenést (Björntorp és mtsai, 1971, Kimmerling és mtsai 1977). Nem tisztázott, hogy mi a fiziológiai alapja a tolerancia csökkenésnek, bár úgy tűnik, hogy az elváltozás okát a receptorok szintjén kell keresni (Fink és mtsai 1984). Klinikai szempontból az is kérdéses, hogy ezen elváltozásoknak milyen fiziológiai jelentősége van a különböző életkorokban. A Diabetes Data Group (1979)

(1979) nem tekinti a csökkent glukóz toleranciát önmagában kórosnak, de szükségesnek tartja az érintett egyedek rendszeres megfigyelését. Idősek esetében azonban ennek egyértelműsége sem tisztázott (Bennett 1983).

A biokémiai paraméterek változásainak megítélésében teljes a bizonytalanság, az adatok igen ellentmondóak (Jernigan és mtsai 1980, Hale és mtsai 1983). Ezen eltérések magyarázhatók az alkalmazott módszerek és a vizsgált populációk különbözőségével. Ugyanakkor a kutatók egyetértenek abban, hogy igen fontos lenne annak egyértelmű eldöntése, hogy idős korban milyen értékhatárok tekinthetők kórosnak, illetve csupán a korral járó fiziológias elváltozásnak. Utalunk itt néhány átfogó felmérés ilyen irányú adataira (Milne és mtsai 1972, Reed és mtsai 1972, Leask és mtsai 1973, Steel és mtsai 1974, McPherson és mtsai 1978, Österlind és mtsai 1984).

2.2.2. A nyomelemek változásai a korral

A nyomelemek és néhány főelem is jelenleg elsősorban a táplálkozással, immunológiával, enzimológiával és öregedéssel foglalkozók érdeklődésének homlokterében állnak, mivel meghatározó a szerepük a sejtek és a szervezet működésében. Részt vesznek tehát - többek között - az immunitásban, befolyásolva a limfociták és granuloci-

ták működését (Zn, Fe, Cu, Mg, Mn, Se, Cd, Cr, Si, Pb), a szénhidrát anyagcserében (Cr), a csontok metabolizmusában (Fluorid), az enzimek kofaktoraként (Fe, Zn, Mn, Se, Mg) és az ízérzésben is (Zn) (Levy 1982, Gershwin és mtsai 1983, Young 1983). Néhány nyomelem vérszintje mint a Zn (Tasman-Jones 1980), Cu (Benke és mtsai 1981), Fe (Kohre 1979), Cr (Schröder és mtsai 1960), Se és Mn (Gershwin és mtsai 1983) úgy tűnik csökken a korral, azonban az erre vonatkozó eredmények is ellentmondóak (Nordstrom 1983). A többi nyomelem tekintetében nincs adatunk, pedig ismeretük igen fontos lenne egyrészt a csökkenő funkciók megértéséhez, másrészt táplálkozási szempontból.

2.2.3. A testösszetétel változása a korral

A fiziológias öregedéssel együttjáró, eddig említett változások minden valószínűség szerint nem elkülönülten jelentkeznek, hanem más rendszereket is érintenek, így egyebek között a szervezet só- vízháztartását is. A klinikai gyakorlatban köztudott, hogy az idősek nagyon kevés folyadékot fogyasztanak, így nagyon könnyen kiszáradnak. Ennek ellenkezője is ismert, tehát az, hogy az idős ember esetében nagyon kevés folyadék-terhelés is az extracelluláris térfogat növekedésével (ödémával) járó kórképet hozhat létre. Ezek a klinikai megfigyelések is ráirányítják a figyelmet arra, hogy a testösszetételben

a kor előrehaladtával jelentős változás lép fel (a homeosztázisban érdekelt szervek teljesítőképessége csökken a korral, és ez a csökkent teljesítőképesség normális élet-tani történések esetén jól funkcionál ugyan, de kóros körülmények között az egyensúlyi helyzet könnyen felborul, ami súlyos betegségekhez, állapotokhoz vezethet). Ahhoz tehát, hogy megértsük az idősök különböző külső - vagy belső - hatásokra történő alkalmazkodóképességének nehézségeit, a testösszetétel idősorra bekövetkező változásának pontos ismerete szükséges.

A testösszetétel kérdései főleg az 50 - 60-as években képezték behatóbb vizsgálat tárgyát és ezek közül is kiemelendő Moore és mtsai (1963) ilyen irányú munkássága. A különböző metodikákkal elvégzett testösszetétel vizsgálatok kimutattak korral járó elváltozásokat, de ezek mértéke és iránya nem volt egységes (Haxhé 1964). Egyesek szerint az extracelluláris volumen (ECV), a plazma volumen (PV) és az egésztest víz mennyiség (TBW) nem változik (Yiengst és mtsai 1962, Pionelli és mtsai 1962, Hurdle és mtsai 1962, Shock és mtsai 1963), míg mások szerint ezek megnőnek (Moore és mtsai 1963, Nathan és mtsai 1963). Az intracelluláris volumen (ICV) az egyetlen testösszetevő, melynek változása egyértelmű az irodalomban, és ez a kicserélhető káliummal (KE) párhuzamosan csökken (Moore és mtsai 1963, Haxhé 1964, Lye 1981, Cox és mtsai 1981), még-

pedig a sejtmassza - főleg az izom - korral történő csökkenésének következtében (Frantrell és mtsai 1951, Meneely és mtsai 1963).

Az ismertetett adatokból is látszik, hogy a testösszetétel idős korra bekövetkező változásainak megítélése sem egyértelmű, pedig ezek a változások nagyon fontos befolyásoló tényezők lehetnek nemcsak az öregedési folyamatnak, hanem a konkrét egészségi - betegségi - állapotnak is idős korban. Rendkívüli mértékben függ továbbá a testösszetétel azon külső és belső hatásoktól, melyekre gyorsan kell reagálnia (Moore és mtsai 1963). Ugyanakkor ismert, hogy az adaptáció általánosan csökken a korral, ezért ez a szükséges reakció már eleve gátoltan megy végbe idős korban.

Az irodalmi adatok ellentmondása egyebek között a technikai különbségekre, a vizsgált egyedek kis számára és egészségi állapotuk homogenitásának hiányára vezethető vissza, de a földrajzi különbségek fennállásának lehetőségét sem szabad figyelmen kívül hagyni (Moore és mtsai 1963).

Fölmerül továbbá az a kérdés, hogy mi szabályozza a testösszetételt, illetve az miért változik meg. Ez rendkívül összetett probléma, ezért nem meglepő, hogy csak kevesen foglalkoztak tanulmányozásával (Nathan és mtsai 1963, Moore és mtsai 1963). A különböző befolyásoló fak-

torok csupán feltételezettek - a hormonális státusz, genetikai tényezők, táplálkozás, mozgás stb. - de még nem pontosan ismertek.

2.2.4. Az endokrin rendszer változásai időskorban

Az endokrin rendszer a testösszetétel egyik potenciális szabályozója. Ebben az összefüggésben elsősorban a pajzsmirigy-, mellékvese-, vesehormonoknak és hipofízis hátsó lebeny hormonnak van jelentősége.

A pajzsmirigy hormonokkal sok közlemény foglalkozik (Rubensten és mtsai 1973, Atkinson és mtsai 1978). Kimutatták, hogy bár idős korban a tiroxin (T4) és a T3 felvétel (T3U) normális értéket mutat (Caplan és mtsai 1981), ez nem jelenti azt, hogy a pajzsmirigy ugyanannyi hormont termelne, mint a fiataloknál. Így a normális vérszint csak a perifériás felhasználás csökkenésével magyarázható (Gregerman 1978). A perifériás felhasználás idős kori csökkenésének pontos oka nem ismert, de feltételezhetően receptor elváltozás is magyarázhatja. A trijód-tironin (T3) csökken, míg a reverz T3 (rT3) nő a korral (Caplan és mtsai 1981). A TSH szint nem változik (Atkinson és mtsai 1978) és úgy tűnik, hogy hasonlóan nem változik a hipofízis válasza sem a TRH-ra, illetve a pajzsmirigy válasza sem a TSH-ra (Gregerman 1978, Mineur és mtsai 1983).

A hipofízis-mellékvese tengely tekintetében nincs

lényegesebb változás a korral. Nem változik az ACTH és kortizol vérszintje sem (Blichert-Toft és mtsai 1976, Vermeulen és mtsai 1982). A kortizol esetében ugyanazzal a jelenséggel (csökkent elválasztás és csökkent perifériás felhasználás, normális vérszint) állunk szemben, mint a T4 vonatkozásában (Blichert-Toft és mtsai 1976). Stressz hatására az időseknél is megfelelő mennyiségű kortikosteroid termelődik (Blichert-Toft és mtsai 1976), bár hatékonysága kétséges, a receptorok számában korral bekövetkező valószínű változások miatt (Cristofalo 1970, Roth 1979).

Az aldoszteron szintje idős korban lényegesen csökken a vérben és a vizeletben is (Takeda és mtsai 1980), bár az utóbbi vitatott (Annat és mtsai 1981). Tekintettel az aldoszteron csökkenésére felmerül a kérdés, hogy a plazma renin aktivitás (PRA) csökken-e a korral. Az adatok arra utalnak, hogy ez a csökkenés valóban fennáll (Santa és mtsai 1980).

További két fontos hormon a testösszetétel szempontjából a növekedési hormon (HGH), ami a korral nem változik (Dudl és mtsai 1973) és az antidiuretikus hormon (ADH), ami a korral nő, viszont a perifériás szenzitivitás az ADH-ra csökken, mint ahogy az antagonisztikus mechanizmusok hatékonysága is (Frolkis és mtsai 1982).

Ezekből az irodalmi adatokból is látszik, hogy az

endokrin rendszer a korral alapvető változásokon megy keresztül és ez a változás olyan fontos szervrendszert érint, amely funkcionálisan befolyásolja a szervezet működésének az egészét. Nem véletlen tehát, hogy az öregedés egyik elmélete az endokrin rendszer változásait teszi felelőssé magáért az öregedési folyamatért. Ezekben a változásokban alapvető szerepet játszanak a receptorok, melyeknek száma, működése, posztreceptoriális kapcsolása - úgy tűnik -, a korral differenciáltan változik (Everitt 1980, Finch 1976, Roth 1979). Ezek az elváltozások azonban, alapjában véve még korántsem tisztázottak.

Az endokrin rendszernek befolyása van a szervezet más rendszereire is. Így feltételezhetően, a testösszetétel mellett az immun rendszerre is (Fabris és mtsai 1972).

2.2.5. Az immun rendszer változásai a korral

Köztudott, hogy a korral megnő a fertőzések, a tumrok, az autoimmun folyamatok, a hormonális diszfunkciók és a degeneratív betegségek előfordulása (Gardner 1980, Doll és mtsai 1970, Blumenthal és mtsai 1964, Schneider 1983, Gergely 1984). Mivel ezeket a betegségeket, ha nem is kizárólag, de igen gyakran immunológiai elváltozásokra vezetik vissza, nem meglepő, ha az öregedés egyik alapvető elmélete az immunrendszer primer, vagy szekunder vál-

tozásait teszi felelőssé az öregedésért (Walford 1969, 1974). Az immun apparátus korral történő változásait széles skálán tárgyalja a szakirodalom.

2.2.5.1. Humorális immunitás

Kimutatott, hogy a korral az IgG és IgA szint nő, míg az IgM szint jelentősen csökken (Hallpen és mtsai, 1973). Az u.n. természetes ellenanyagok szintje is csökken, ami voltaképpen tükörképe az autoantitestek korral történő növekedésének (Rowley és mtsai 1968, Kay 1976). Az immunválaszadás készsége is megváltozik, mert a primer válasz csökken, míg a szekunder válasz nem változik lényegesen (Ammann és mtsai 1980). Az immunkomplexek is megszorodnak a szervezetben, ami úgyszintén az autoantitestek felszorodásával magyarázható. Megállapítható tehát, hogy a humorális immunválasz csökken a korral, és ez a T-helper sejtek funkciójának csökkenésére vezethető vissza (mint azt a primer válasz csökkenése mutatja). Ugyanakkor, morfológiai változásuk ellenére a B sejtek funkciója kevésbé csökken (kielégítő szekunder válasz) (Beregi 1972). Ebből következik, hogy hiába van összességében megfelelő antitest szint, az antitestek összetétele nem megfelelő és ez a szervezet védekezőképességét nagymértékben rontja.

2.2.5.2. Celluláris immunitás

A celluláris immunitás alakulásában meghatározó szerepet játszik a timusz korrall összefüggő involúciója. Ezzel együttjár a T sejtek funkciójának változása is. A T sejtek abszolút száma nem változik ugyan, de a szubpopulációk aránya igen (Mascart-Lemon és mtsai 1982). A lényegesebb immunológiai paraméterek változásait az 1. tábla tartalmazza. Ebből kitűnik, hogy a T sejthez fűződő, minden főbb funkció csökken a korrall (Robert-Thompson és mtsai 1974, Inkeles és mtsai 1977, Makinodan és mtsai 1980, Weksler 1983, Báthori és mtsai 1982). Ugyanakkor idős korra a timusz által kiválasztott faktorok mennyisége is csökken és ez tovább rontja a T sejtek funkciót. Csökken továbbá a T sejtek aktiválhatósága és osztódó képessége is, amit egyebek között a Ca^{2+} transzport megváltozásával hoznak összefüggésbe (Kennes és mtsai 1981).

Ma már nagy hangsúlyt fektetnek az immunológiában a sejtek közötti kölcsönhatásokra. Ezen belül is a limfokinek szerepére, mivel közrejátszanak a sejtek aktiválásában, transzformációjában (de Weck és mtsai 1984). Idős korúakra vonatkozó ilyen jellegű adat azonban kevés van még. Az interleukin 1 és 2 feltehetően csökken, de az általuk indukált funkciók változása még nem tisztázott. Feltetelezik, hogy ezek a funkciók is csökkennek és ebben szerepet játszanak a receptorok működési zavarai is (Makinodan és mtsai 1984).

1. tábla: Az immunológiai paraméterek korral történő változásai*

1.) Ösejtek

Általában számuk elegendő és funkcionális kapacitásuk jó

2.) Timusz

A timusz morfológiai visszafejlődése

Hormon kiválasztás- és hatás csökkenése

3.) T-limfociták

In vivo

Allograft kilökés

Graft-versus-host reakció

Limfociták proliferációja a periférián

Elhúzódó hiperszenzitivitás

csökken

In vitro

Sejt függő citotoxicitás

Mitogén stimuláció Con A-val és PMA-val

Rozetta formáció (emberi és birka)

Interferon termelés (egér)

csökken

talán csökken

talán nő

4.) B-limfocita

In vivo

Normális B limfocita szám

Spontán "hibák" növekedése (autoantitest, monoklonális antitestek)

Szérum antitest szint nem változik

Antitest termelés specifikus antigén ellen

a.) Timusz függő antigén csökken

b.) Timusz nem függő antigén nő

In vitro

LPS stimuláció (egér)

Plakk formáló sejtek

a.) Timusz függő

b.) Timusz nem függő

csökken

A limfociták működésének idős korra bekövetkező változásai önmagukban nem magyarázzák meg teljesen az immunológiai funkciók romlásával magyarázott idős kori betegségek előfordulásának nagy arányát. Figyelembe kell venni alapvető és általános biokémiai elváltozásokat, valamint a monocita-makrofág rendszer, illetve granulociták működését is.

2.2.5.3. Monocita-makrofág rendszer

A monocita-makrofág rendszerről az immun rendszer vizsgálatakor kevés szó esik, mivel az irodalmi adatok szerint működésükben a kor előrehaladtával nem következik be változás (McDevitt 1968, Mitchinson 1969, Perkins 1961, Gardner és mtsai 1981). Úgy tűnik azonban, hogy a ma alkalmazott finomabb tesztek segítségével ez a megállapítás helytelennek bizonyulhat.

2.2.5.4. Polimorfonukleáris granulociták (PMNLs)

Ezen sejtek korral történő változásaival igen kevesen foglalkoztak, mivel az irodalom egységesnek látszik abban, hogy sem a fagocitózis, sem az intracelluláris killing nem változik a korral (Palmblad és mtsai, 1978, Nagel és mtsai 1982). Egy irodalmi megállapítás szerint az intracelluláris killing csökken a korral (Corberand és mtsai 1981). A fagocitózis receptorokon ($Fc\gamma$ és C3b)

keresztül történő differenciált vizsgálatára - a korral összefüggésben - nincs adat. Lassanként előtérbe kerül ugyanakkor a granulociták és az immunapparátus más sejtjeinek, effektor funkcióinak, szabályozó mechanizmusainak tanulmányozása. Ezen területen a granulociták modellként szerepelhetnek, mint ahogy a morfológiai tanulmányok céljaira a limfocitákat ajánlották (Beregi és mtsai, 1980).

Végző soron megállapítható, hogy az immunválasz (humorális, celluláris) - ha egyelőre sok ismeretlen faktoral is - csökken a korral, ezért a regulációs mechanizmusok közül elsősorban a szabadgyök képzés, az ion transzport és a ciklikus nukleotidák, azaz a receptor funkció tanulmányozására vonatkozó irodalom érdemel különös figyelmet.

2.2.6. A szabadgyök képzés változása a korral

A szabadgyök képzés a mai orvostudomány egyik legizgalmasabb kérdése. Számos betegségben tették felelőssé és az öregedés egyik alapvető elmélete is a szabadgyökök szerepére épül (Harman 1956).

A szervezetben normálisan is számos szabadgyök képződik, amikor a szervezet metabolizálja az O_2 -t, azonban ezek detoxifikálására többféle lehetőség van (Fehér és mtsai 1984, Jávor és mtsai 1985). A szabadgyök elmélet által érintett szabadgyökök szerepén túlmenően, az utóbbi

időben számos olyan tanulmány jelent meg, amely a granulocitáknak, mint a szervezet egyik legaktívabb szabadgyök képző sejtjeinek a szerepével foglalkozik (Halliwel és mtsai 1984, Babior 1984).

A granulociták és monociták által termelt szabadgyököket felelőssé tették sok biológiailag káros hatásért, mint pl. lipid peroxidációban, az enzimek inaktiválásában, a lipofukszin felgyülemelésében (Halliwel és mtsai 1978, Lipman 1980) és az extracelluláris szövet roncsolásában, illetve a degeneratív betegségekben (emfizéma, amiloidózis, atheroszklerózis) játszott patogenetikus szerepükért (Pryor 1981, Babior 1984, Halliwel és mtsai 1984). Ugyanakkor alapvető fontosságuk van a szervezet védekezésében, mivel elsőrendű szerepet játszanak a baktériumok és a tumor sejtek elpusztításában (Johnston és mtsai 1975, Klebanoff 1975, Edelson és mtsai 1973, Nathan és mtsai 1981). Látható tehát, hogy az életben a szabadgyökök alapvetően kettős szerepet játszanak. Ezért is lényeges, hogy hogyan alakul képzésük idős korban, nyugalmi és stimulált állapotban, illetve hogyan történik detoxifikálásuk. Ezekre a folyamatokra kevés adat van jelenleg az irodalomban. Úgy tűnik, hogy a szabadgyök képzés a korral (főleg H_2O_2 és OH^-) fokozódik nyugalmi állapotú sejtekben (Leibovitz és mtsai 1980), míg stimuláció hatására (fagocitózis) nem termelődik megfelelő mennyiségű

szabadgyök (Van Epps és mtsai 1978, Nagel és mtsai 1982).

A detoxifikációt tekintve, az egyik alapvető detoxifikáló mechanizmus a SOD, amely csökkenni látszik a korral, ennek megítélése azonban egyáltalán nem egységes (Reiss és mtsai 1976). A GSHPx és GR aktivitásra granulocitákban nincs adat, de más szövetekben, egyes adatok szerint, aktivitásuk csökken a korral (Hazelton és mtsai 1985).

Az irodalomban közöltek szerint tehát a szabadgyök képzés mind nyugalomban, mind stimulációra, a detoxifikációval együtt megváltozik a korral, bár a pontos és meggyőző adatok erre nézve még hiányoznak.

Kérdezhetjük, hogy mi szabályozza a sejt szabadgyök képzését. Kimutatták, hogy ezt a folyamatot nagy valószínűséggel a ciklikus nukleotidák irányítják az NADPH oxidáz szabályozásán keresztül (Lehmeyer és mtsai 1978, Quie 1983), bár meg kell jegyezni, hogy vannak, akik ezzel nem értenek egyet (Simchowitz és mtsai 1983).

2.2.7. A ciklikus nukleotidák változásai a korral

A ciklikus nukleotidák szabályozzák - többnyire a kinázokon keresztül (pl. cAMP dependens protein kináz) - a sejtek főbb funkcióit, mint a hormonokra adott sejtválaszt, fagocitózist, intracelluláris killinget, ADCC-t, sejt aktiválást (osztódást) és mondhatni a sejtek minden

fontosabb biokémiai aktivitásában, ha áttételesen is, közrejátszanak (Ragsdale és mtsai 1980, Smolen és mtsai 1980, Faragó 1981, Schultz és mtsai 1982). Szerepük tehát alapvető és a korral történő változásaiknak megismerése igen nagy jelentőségű lehet.

Granulocitákra vonatkozóan még nincs adatunk. Tame és Walford (1980), a limfociták cAMP szintjét alacsonyabbnak találta idősokban, míg Mark és Weksler (1982) nem találtak változást. Leírták még az adenilát cikláz aktivitásának növekedését idős korban (Krall és mtsai 1983). Ezeken túl azonban nem sok adat van a ciklikus nukleotidák alakulásáról idős korban.

A ciklikus nukleotidák képződése mellett a Ca^{2+} metabolizmus is aktiválódik a receptorok stimulálásakor.

2.2.8. A Ca^{2+} metabolizmus változásai a korral

A Ca^{2+} igen fontos szerepet tölt be a granulociták funkcióinak megindításában (Naccache és mtsai 1979, Gennero és mtsai 1984, Lagast és mtsai 1984), majd regulációjában, melyeket a felületi stimuláció vált ki és melynek egyik fő mediátora a sejtben a kalmodulin. A ke-motaxist, a lizoszómális enzimek kiáramlását és az O_2^- termelésének megindulását tehát megelőzi a citoszol Ca^{2+} tartalmának a növekedése. Így elmondhatjuk, hogy a sejtekben a Ca^{2+} a kalmodulin segítségével másodlagos ingerület hor-

dozó (second messenger) funkciót tölt be (Piassik és mtsai 1983). Ezen túlmenően a Ca^{2+} regulálja az adenilát, illetve guanilát cikláz is (Cheung 1980, Means és mtsai 1982, Gilman 1984). A Ca^{2+} nagyon fontos szerepet játszik a T limfociták aktiválásában is (O'Flynn és mtsai 1984).

Így teljesen érthetővé válik, miért olyan fontos tanulmányozni, hogy hogyan képesek a granulociták és más sejtek szabályozni az intracelluláris Ca^{2+} szintet. Különösen a Ca^{2+} plazma membránon keresztül történő mozgásának lehet nagy fiziológiai jelentősége, mivel a membrán receptor aktiválása azonnal számos biokémiai folyamatot indít el, beleértve a citoszol szabad Ca^{2+} koncentrációjának változását is (Petroski és mtsai 1979, Mottola és mtsai 1982). A plazma membránon a Ca^{2+} transzport

1.) kalmodulin függő Ca-ATPáz pumpán keresztül, illetve
2.) a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélődés mechanizmuson keresztül történik, de bármily módon is történjék, a Ca^{2+} pumpa nagy szerepet játszik a Ca^{2+} homeosztázis fenntartásában (Lagast és mtsai 1984).

Stimuláció hatására (pl. Con A), a membrán permeabilitása a Ca^{2+} -ra fokozódik és megnő a kicserélhető Ca^{2+} frakció is. A külső Ca^{2+} beáramlik és növeli mind a kötött, mind a szabad Ca^{2+} szintet. A szabad Ca^{2+} növekedése elindítja a O_2^- termelést, a granulocita aktivációt és segíti a Ca^{2+} kiáramlást az ATP-áz pumpán keresztül. Ez a megnövekedett szabad Ca^{2+} elég arra, hogy a szabályo-

zó fehérjével a kalmodulinnal vagy más reguláló fehérjékkel kölcsönhatásba lépjen és így modulálja a biokémiai reakciókat, melyek a sejt aktivációjához szükségesek (Scully és mtsai 1984).

Csupán a limfociták esetében van adat arra, hogy a Ca^{2+} függő folyamatok a limfocita aktiválás hatására megváltoznak a korral (Kennes és mtsai 1981, 1982), ami valószínűleg a Ca^{2+} pumpa megváltozásának, illetve más, sejtben belüli biokémiai folyamatok megváltozásának a következménye.

Ezek az adatok is hangsúlyozzák a receptorokon keresztül történő szignalizációs mechanizmusok jelentőségét. A korral járó változások megismerésében lényeges tehát, hogy mit tudunk a receptorok korral történő változásairól.

2.2.9. A receptorok működésének változása a korral

Az eddigiekből látható, hogy bármilyen fiziológiai hatásról van is szó (hormonok, immunitás, testösszetétel, stb.) előbb-utóbb elkerülhetetlenül felmerül a receptorok működésének, számának, affinitásának problematikája. A receptorok működésének jórésze már tárgyalásra került, mivel a sejt regulációs mechanizmusai - a szabadgyök képzés, ciklikus nukleotida változások, Ca^{2+} transzport - többé-kevésbé függnék a receptor stimulációtól.

A receptorok működésében az alapvető kérdés, hogy hogyan jut el a kívánt "üzenet" a receptortól a sejt megfelelő komponenséhez, vagyis mi történik a sejtmembránban és a citoszolban a ligand kötődése után. Úgy tűnik, hogy létezik a kaszkád mechanizmusnak egy egységes rendszere, melynek számos összetevője van és a ligand jellegétől függ, hogy a ligand melyik szinten avatkozik be a mechanizmusba (Berridge 1984, Gilman 1984 a,b; Schultz és mtsai 1982, Gilbert és mtsai 1983, Morgan és mtsai 1984, Lad és mtsai 1983, Zhang és mtsai 1983). Érthető tehát, hogy a receptorok működésének, vagyis a transzmembrán szignalizációnak igen fontos szerepe van a sejtek funkcióinak fenntartásában és így az életben tartásukban is. Ezért a receptor működés és a kor összefüggésének tanulmányozása különösen nagy jelentőségű.

Kevés tanulmány jelent meg arról, hogy a receptorok stimulálása milyen intracelluláris változásokat idéz elő (Birkenfeld 1984, Halper 1984). Annál több tanulmány foglalkozik azzal, hogy hogyan alakul a korral a receptorok száma, affinitása és biológiai hatása (Roth 1979 b, a; Finch 1976). A receptorok száma, affinitása csökkenhet, de ez nem általános. Ennek alapján a kutatók eljutottak arra a következtetésre, hogy bizonyos öregkori megváltozott funkciókért a receptorok működésének alapvető megváltozása tehető felelőssé (Roth 1979, 1982, Makinodan és mtsai 1984, Chuknipka és mtsai 1985).

Az idős korral járó funkcionális elváltozásokra vonatkozó irodalom áttekintését összegezve arra a megállapításra juthatunk, hogy a gerontológiában:

- alapvető fiziológiai változások sem tisztázottak még egyértelműen,
- megoldásra váró feladat a korral bekövetkező változásokat előidéző mechanizmusok feltárása és rendszerezése,
- különösen sokat ígérő a receptorok szerepének megismerése, melyek végső soron az egész fiziológiai szabályozás rendszerének alapjául szolgálnak és ezáltal alapvető szerepet játszhatnak az öregedési folyamatban.

3. CÉLKITŰZÉSEK

Jelen munkánknak az ad különleges aktualitást, hogy az idősök száma rohamosan nő világszerte, így hazánkban is. Klinikai észlelések és tanulmányok során kitűnt, hogy bizonyos betegségek a kor előrehaladtával gyakrabban fordulnak elő, mindenekelőtt degeneratív betegségek, kardiovaszkuláris betegségek, tumorok, fertőzések. Az irodalmi adatok nem adnak egyértelműen magyarázatot sem a korral járó fiziológiai elváltozások milyenségére, sem azok okaira. Kevés az adat továbbá arra nézve, hogy mi a normális idős korban illetve mi a kóros.

Így az irodalmi áttekintés során leszűrt következtetések révén már egyértelműen felvázolódott az az út, amelyet követnünk kellett ahhoz, hogy megkísérelhessünk hozzájárulni és adatokat szolgáltatni a gerontológia és geriátria elméleti és gyakorlati problémáinak megoldásához és végsősoron az időskorú lakosság egészségi állapotának javításához.

Ennek megfelelően jelen munkánkban azt szerettük volna kimutatni, hogy:

- 1.) milyen általános (lipid, szénhidrát anyagcsere, biokémiai) paraméterekkel rendelkeznek biztosan egészséges idős emberek, hogy biztonsággal meg tudjuk később állapítani, mi az, ami igazán kóros időskorban;
- 2.) milyen a testösszetétele egészséges, idős embereknek,

amely befolyásolhatja a szervezet egészének működését,
a sejtmassza és a só- vízháztartás változása révén;

- 3.) milyen tényezők okozhatják a testösszetétel változását,
különös tekintettel az endokrin rendszerre;
- 4.) változnak-e a korral a monociták és granulociták receptor és nem receptor közvetített effektor funkciói;
- 5.) amennyiben az effektor funkciók változnak, mi lehet ezek szabályozó mechanizmusa, különös tekintettel a szabadgyök képzésre, a Ca^{2+} ion transzportra és a ciklikus nukleotidákra;
- 6.) általánosnak tekinthetők-e idős korban az észlelt változások.

Összefoglalva, munkánkkal az volt a célunk, hogy:

- támpontot próbáljunk adni bizonyos elváltozások kórosként való megítéléséhez, és a további gyakorlati teendők meghatározásához;
- felállítsunk egy modellt a receptor működésének tanulmányozására, mely alkalmas lenne a különböző betegségekben észlelt elváltozások monitorozására;
- feltárjunk olyan regulációs zavarokat, melyek befolyásolhatók lennének és így az észlelt kóros folyamatokat elkerülve, vagy legalábbis mérsékelve, az idősök egészségi állapotát javítani lehetne.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A vizsgálatba bevont személyek

Vizsgálatainkat a Debreceni Városi Tanács egyesített szociális otthonában végeztük 1981 és 1984 között. Célunk a szociális otthon minden lakójának szűrése volt. A vizsgálat első fázisában több mint 200 olyan idős embert vizsgáltunk meg, akit az ápolószemélyzet egészségesnek tartott és aki önmagát is egészségesnek tudta. Több ilyen személyt már az anamnézis és a fizikális vizsgálat alapján ki kellett hagyni az egészségesek csoportjából. Ezután végeztük el a klinikai és a laboratóriumi vizsgálatokat (2. tábla), amelyek alapján további személyeket szűrtünk ki az egészségesek csoportjából. A kiszűrteket a megfelelő egészségügyi intézetbe, illetve szakorvoshoz utaltuk. Végül is 30 - 30 időszerű férfi és nő bizonyult egészségesnek, amit az összes fentemlített vizsgálat negativitása támasztott alá. Az értékelésben tárgyalásra kerülő paraméterek vizsgálatát a továbbiakban ezeken a személyeken végeztük el, beleegyezésükkel. Meg kell jegyeznünk, hogy az elkövetkező vizsgálatok többségét mindenkinél, néhányat viszont csak az egészségesekből kikerült kisebb számú idős ember esetében tudtuk elvégezni.

Valamennyi vizsgált személy évek óta lakott már a szociális otthonban. Táplálkozási körülményeik azonosak

2. tábla: Az egészségi állapot megítéléséhez használt klinikai és laboratóriumi vizsgálatok

Anamnézis

Fizikális vizsgálat

EKG

Mellkas rtg

Vérnyomás fekvő, állva

Vizelet vizsgálata: fajsúly, albumin, p, s, ubg, bilirubin, acetón, üledék

Hematológiai paraméterek: hematokrit, hemoglobín, fehérvérsejtszám, vörösvérsejtszám

Westergreen (vvt süllyedés)

Szérum Na, K, Ca, P, glukóz, húgysav

Bilirubin, Karbamid, Kreatinin

Összfehérje és elektroforézis

Lipidek: Koleszterin, HDL-chol, Triglicerid, Lipid elektroforézis

Májenzimek: AP, SGOT, SGPT, γ -GT

Hormonok: mellékvese-, pajzsmirigy hormonok, plazma renin aktivitás, ACTH, PTH, calcitonin, inzulin

Orális glukóz terhelés

voltak. Nem dohányoztak, nem fogyasztottak szeszes italt és nem szedtek gyógyszert sem. Mindegyikük önállóan mozgó, de nem dolgozó egyén volt.

Az összehasonlítási alapot 10 - 10 ugyanezen módon szűrt, kollégiumban lakó orvostanhallgató férfi és nő képezte.

Annak tisztázása végett, hogy a szociális otthonban lakó idős, egészséges emberek értékei reprezentálják-e az idős egészséges populációt, otthonukban élő egészséges idősöket is vizsgáltunk. Őket is a fent említett kritériumok alapján nyilvánítottuk egészségesnek. Ebben a csoportban 20 férfi, illetve 20 nő vett részt. A vizsgálatba bevont személyek számát kor és nem szerint a 3. tábla részletezi.

3. tábla: A vizsgálatba bevont személyek megoszlása kor, nem- és az életkörülmények szerint

Megnevezés	Kor (év)	Ffi	Nő
Szociális otthonban lakó	60 - 94	30	30
Otthonában élő	60 - 97	20	20
Kollégiumban lakó orvostanhallgató	18 - 25	10	10

A vizsgált személyek főbb szomatometriai paramétereit a 4. tábla tartalmazza.

4. tábla: A vizsgált személyek egyes szomatometriai paraméterei kor és nem szerint^x

Nem	Kor	n	Kor (év)	Testsúly (kg)	Testmagasság (cm)	Testfelület (m ²)
Férfi	Idős	30	77,60 ± 7,13	60,6 ± 10,40	165,80 ± 8,28	1,66 ± 0,14
		20	76,23 ± 6,81	61,1 ± 15,15	161,05 ± 7,31	1,59 ± 0,12
	Fiatall	10	20,30 ± 1,89	72,6 ± 10,34	177,50 ± 8,11	1,88 ± 0,15
Nő	Idős	30	76,10 ± 7,13	56,1 ± 9,21	156,71 ± 8,88	1,55 ± 0,152
		20	77,35 ± 7,21	54,35 ± 7,09	159,59 ± 4,76	1,58 ± 0,140
	Fiatall	10	20,60 ± 2,22	54,9 ± 2,71	165,30 ± 1,80	1,59 ± 0,030

x A táblázatban az $\bar{x} \pm S.D.$ értékek szerepelnek

4.2. Vizsgálati módszerek

4.2.1. Lipid meghatározások

A lipidek meghatározása során a koleszterinhez Röschlau és mtsai (1974) módszerét, a HDL-chol-hez a Mg Foszforsavval való lecsapás után enzimátikus meghatározást használtunk. Az LDL-chol értékét Friedwald képlete* alapján számítottuk ki (Turpin 1982). A trigliceridet Eggstein és mtsai (1966), Wahlefeld (1974) által módosított enzimátikus módszerével határoztuk meg. A lipoprotein elektroforézis Lóza (1974) módszere szerint történt.

4.2.2. Glukóz meghatározás és orális glukóz tolerancia teszt

A vércukor meghatározását glukóz oxidáz (GOD-PERID) módszerrel végeztük (Boehringer-kit, Werner és mtsai 1970) 75 gr cukor fogyasztást megelőzően (0 perc), illetve a fogyasztás után 30, 60, 90, 120 és 180 perccel.

Az orális glukóz tolerancia tesztet (OGTT) a WHO által megadott normák szerint végeztük. Súlyra való tekin-

$$* \text{ LDL-chol (mmol/l) } = \text{ Összkoleszterin } - \text{ HDL-chol } - \frac{\text{triglicerid}}{2,2}$$

tet nélkül mindenki 75 gr glukózt kapott. A cukor elfogyasztása éhgyomorra, egyszerre történt, de semmiféle diétás megszorítást azt megelőzően nem alkalmaztunk.

4.2.3. Hormon meghatározások

Az rT3 (BIO-DATA), az ACTH (CIS), a kortizol (BIO-RAD), a TSH (Mallincrodt), az Aldosteron (D.P.C.) a PRA (Pharmacia) meghatározások RIA módszerrel készültek a leírásoknak megfelelően. A T3U és T4 meghatározás háziilag kifejlesztett RIA kittel történt (Szabó és mtsai 1980, 1981). Az Inszulin meghatározás költség- és anyagigényessége miatt csak 5 - 5 idős, egészséges és 5 - 5 fiatal, egészséges férfi és nő esetében volt lehetséges. Az immun reaktív inzulin (IRI) meghatározását RIA módszerrel végeztük (Izinta, MTA, Izotóp Intézet).

4.2.4. Biokémiai meghatározások

A Na, K, Ca, P, karbamid, bilirubin, kreatinin és összefehérje meghatározása SMA Technicon autoanalyser (USA) segítségével történt. A hematológiai paramétereket Automata Hematológiai Analizátorral typ. PHA 1 (Medicor-MLW, Budapest, Ilmenau) határoztuk meg. A májenzimek meghatározása Boehringer (NSZK) kitek segítségével történt. Az immunoglobulinok meghatározását lézer nefelométerrel

(Hyland, USA) végeztük. A fehérje komponenseket papír elektroforézissel határoztuk meg. A kreatinin clearance meghatározása 24 órás gyűjtött vizeletből történt.

Irodalmi adatokra támaszkodva, azokban az esetekben, ahol a variancia stabilizálására és a normális eloszlás jobb közelítésére volt szükség az egyes paraméterek logaritmus értékével dolgoztunk (karbamid, AP, kreatinin, bilirubin).

4.2.5. Vízter multiizotópos meghatározása

Ezeket a vizsgálatokat a betegek egyetértésével és a felügyeleti szervek engedélyével, 20-20 idős férfi és nő, illetve 10-10 fiatal férfi és nő esetében végeztük el.

Az egésztest vízmennyiség (TBW, $200 \mu\text{Ci } ^3\text{H}_2\text{O}$), az extracelluláris tér (ECV $70 \mu\text{Ci } ^{35}\text{SO}_4$) és a kicserélhető Na^+ (NaE, $10 \mu\text{Ci } ^{22}\text{Na}$) meghatározása multiizotóp metodika szerint történt (Bauer és mtsai 1975 a,b), melyet Wórum és mtsai (1979) módosítottak. A plazma volumen (PV) mérése indocianin zöld (Cardiogreen^R, Hynson, Westcott, Dunning Co, Baltimore, USA) segítségével történt (Hamilton és mtsai 1932).

Más testösszetevőket, mint pl. az intracelluláris volumen (ICV), az intersticiális volumen (ISV), a vörösvérsejt massa (RCM) és a teljes vér volumen (TBV) a megmért testösszetevőkből számítottuk ki. A zsírmentes test-

súly (LBM) és a teljes zsírmennyiség kiszámításához a Pace-Rathbun (1945) formulát használtuk. A kicserélhető kálium (KE) kiszámításához Moore (1963) képletét alkalmaztuk.

A tritiált víz és a radiosulfát kinetikájának meghatározásához a 30. percben és azt követően 60 percenként vett vérminták szolgáltak, míg a ^{22}Na kinetikájához a 120 perc után vett vérmintákat használtuk. Nem korrigáltuk az eredményeket a testfelületre. Az izotópok kinetikai eliminációjának kiszámításához az $y = ae^{bx}$ exponenciális formulát alkalmaztuk, ahol y a minta specifikus aktivitását, míg az x a beadástól eltelt időt jelenti percekben.

4.2.6. Nyomelemek meghatározása

A nyomelemek (Zn, Cu, Mo, Mn, Ba, Li, Al, V, Ni, Cr, Co) és néhány főelem (Na, Fe, Ca) meghatározására a szérumban, granulocitákban és limfocitákban került sor, roncsolásuk után ($+150\text{ }^{\circ}\text{C}$) grafitkemencés atomemissziós spektrometriás (GREAS) módszerrel (Papp és mtsai 1985).

A következőkben ismertetett speciális vizsgálatokat, teszteket igen nagy költség- és vegyszerigényük miatt nem tudtuk minden esetben, mindenkinnél elvégezni. A továbbiakban mindig jelezni fogjuk, hány egyednél végeztük azokat el.

4.2.7. Sejtek előkészítése a vizsgálatokhoz

4.2.7.1. Monocita szeparálás

A monociták szeparálása Kumagai és mtsai (1979) módszere szerint történt. A Ficoll-Hypaque gradiens centrifugálás után a monocitákat főtál szérummal kezelt műanyag petri csészében tisztítottuk tovább. A végleges sejtszuszpenziókat RPMI 1640 (Gibco) mediumban készítettük el oly módon, hogy a végleges sejtsűrűség 2×10^6 /ml volt.

4.2.7.2. Granulocita szeparálás

A granulocita szeparálás Ficoll-Hypaque gradiens centrifugálással történt, melyet a granulocita gazdag üledék szedimentációja követett (Böyum 1968). A maradék vörösvérsejteket hipotóniás sóoldattal oldottuk. A granulociták morfológiai kritériumok szerint 95 %-os tisztaságúak, és tripán kék teszttel 97 %-ban életképesek voltak.

4.2.7.3. Limfocita szeparálás

A limfocita szeparálás Ficoll-Hypaque gradiens centrifugálással készült (Böyum 1968).

4.2.7.4. ^{51}Cr -humán vörösvérsejtek (HVVS) előkészítése

O Rh (D) poz HVVS-eket mostunk, majd 10^9 sejtet

120 percig inkubáltunk 37 °C-on 100 μ Ci 51 krómmal (Radioizotóp Centre, Swierk, Lengyelország). Mosás után a sejteket 15 percig papainos emésztésnek vetettük alá, majd 60 percig inkubáltuk anti D humán immunoglobulin (OHVI) szubagglutináló koncentrációjával. Újabb mosás után a kívánt sejtszámot RPMI 1640 médiumban készítettük el.

4.2.8. Fcy receptor (FcyR) által közvetített funkciók mérése

4.2.8.1. Fagocitózis mérése monocita FcyR-on keresztül

A vizsgálatot az általunk makrofágokra leírt módszer szerint végeztük kis módosítással (Fóris és mtsai 1983). Röviden: a 2×10^6 mononukleáris sejtet tartalmazó médium 1 ml-ét Nunclon (N-4200) petri csészékbe helyeztük (30 mm átmérő) és ASSAB CO₂ inkubátorban (CO₂ 5 %, levegő 95 %, páratartalom 95 %) 37 °C-on 60 percig inkubáltuk. A nem adherált sejteket lemostuk és a monolayereket képző sejtek számát invert mikroszkópra szerelt kivetítő feltét segítségével pontosan meghatároztuk oly módon, hogy a sejtek számát öt random-szerűen kiválasztott területen határoztuk meg. A nagyítás, valamint a monolayer alapterületének pontos ismeretében a monolayereket alkotó monociták száma pontosan meghatározható. Az IgG-vel fedett, jelzett HVVS-eket úgy adtuk a rendszerhez, hogy a

kitapadt monocita/HVVS arány 1:10 volt. Az idősök monocitáinak adherenciája a fiatalokétól nem tért el. Ujabb 60 perces inkubáció után a nem adherált HVVS-eket mosással eltávolítottuk, majd a monocitákhoz kötődött, de nem inkorporált, azaz a rozetta képzésben involvált HVVS-eket 30 másodperces desztillált víz kezeléssel oldottuk. Az ebben a frakcióban mért radioaktivitás arányos az EA rozetta képzéssel, míg a 0,2 %-os nátrium dodecil szulfáttal leoldott monolayereket tartalmazó frakcióban mért radioaktivitás a már fagocitált HVVS-ek számával azonos. Ismert számú HVVS radioaktivitásának birtokában a monocita által megkötött, illetve fagocitált HVVS-ek számát adtuk meg.

4.2.8.2. Monocita ADCC meghatározás

Monocita ADCC meghatározás során ugyanúgy jártunk el, mint a fagocitózis mérésekor, csak a HVVS-et 1:1, 1:2, 1:4 és 1:8 arányban adtuk a monocitákhoz és 4 órás inkubáció után a felülúszók radioaktivitását határoztuk meg. A spontán lízis kivonása után a monocita által oldott HVVS-ek számát adtuk meg. A fagocitózis, illetve az ADCC mérésekor az egyén monocitáit minden esetben összehoztuk azonos sejtszámú és ^{51}Cr -mal jelzett, de anti D humán IgG-vel nem fedett HVVS-ekkel és az így kapott spontán inkorporációt vagy lízist a megfelelő vizsgálati értékből levontuk.

4.2.8.3. Fagocitózis mérése granulocita Fc γ R-on keresztül

A kísérlet Scribner és Fahrney (1976) metodikája szerint történt kis változtatásokkal. A fent leírt módszerrel jeleztük krómmal a HVVS-et, melyeket 10^7 sejtkoncentrációban hozzáadtuk 10^6 granulocitához 1,0 ml RPMI 1640 médiumban. 60 perces inkubáció után ASSAB CO₂ termosztátban 37 °C-on, a kötött HVVS-et oldottuk jéghideg desztillált vízzel 30 másodpercig, amelyet hipertóniás NaCl hozzáadása követett. Ismételt mosások után a granulocitákat oldottuk 0,2 %-os Na dodecil szulfáttal (0,1 ml) és a 0,25 ml-es aliquot radioaktivitását határoztuk meg NK 350 gamma scintillatio mérőn.

4.2.8.4. Granulocita ADCC meghatározás

Granulocita ADCC meghatározás során ugyanúgy jártunk el, mint a fagocitózis mérésekor, csak a HVVS-et 10^6 granulocitához adtuk 10^6 , $2,5 \times 10^6$, $5,0 \times 10^6$, $7,5 \times 10^6$ és 10^7 koncentrációban. Előzetes kísérleteink eredményeit figyelembe véve a méréseket 1:10 effektor-target sejt arányban végeztük el 4 órás inkubáció után ASSAB CO₂ termosztátban 37 °C-on. Centrifugálás után a felülúszó radioaktivitását megmértük és a granulocita által oldott HVVS-et meghatároztuk. A kontrollt IgG nélküli oldás képezte és ezt kivontuk az individuális minták értékéből. A granulocita ADCC aktivitást különböző koncentrációju Met-enkefalin (Met-enk)

(Serva) hozzáadása során is megmértük. A granulocitákat 60 percreg inkubáltuk különböző koncentrációjú Met-enk-al, mielőtt a jelzett HVVS-et hozzáadtuk volna. A naloxon gátló hatását is vizsgáltuk olymódon, hogy a naloxont 15 perccel a Met-enk hozzáadása előtt juttattuk a rendszerbe. Mind a Met-enk-t, mind a naloxont ismételt mosásokkal eltávolítottuk, mielőtt az ADCC aktivitást meghatároztuk.

4.2.8.5. Granulocita intracelluláris killing meghatározás

Yamamura és mtsai (1976) metodikáját használtuk változtatás nélkül.

4.2.9. Fagocitózis élesztő sejtekkel történő mérése

A granulocitákat RPMI 1640 médiumban szuszpendáltuk, majd 5×10^7 hővel előlt *Candida albicans*t (OKI, Budapest), vagy *Saccharomyces cerevisiae*-t adtunk hozzá, melyeket friss autológ szérummal opszonizáltunk 1,0 ml végtérfogatban. 60 perces inkubáció után 37°C -on a sejteket lemostuk és a maradékból keneteket csináltunk. Fixálás és festés után megnéztük, hogy 200 granulocita mennyi élesztő sejtet kebelezett be. Az élesztő sejt fagocitózisnál az inkorporáció az $\text{Fc}\gamma$ és C3b receptorokon keresztül történik.

4.2.10. Oxidációs folyamatok mérése

4.2.10.1. Kemilumineszcencia mérése

A mérést 37°C -on, szilikonozott csövekben végeztük 10^5 granulocita és 10^{-7} M Luminol (Fluka) hozzáadásával. A sejteket, a reagenseket és a csöveket sötét-höz szoktattuk, majd a méréseket vörös fény-nél végeztük. A méréseket Searle/Isocap 300 liquid scintillátorral végeztük. 0,2 perces intervallumokban mértük a beütéseket 40 percig, majd a görbe alatti területeket integráltuk. Ugyanígy történt a mérés fagocitózis alatt.

4.2.10.2. O_2 fogyasztás

Ezt Clark féle elektróddal mértük 3 ml-es szuszpenzióban, amelyben 5×10^6 granulocita volt, állandó rázás közben 37°C -on. A preinkubációs idő 30 perc volt, mely alatt a levegővel az egyensúly létrejött (Tanabe és mtsai 1983).

4.2.10.3. Superoxid termelésének mérése

A superoxid mérését élő granulocitákon Babior és mtsai (1973) metodikája alapján végeztük. A superoxid termelésének mérése a granulociták élesztőgomba fagocitózisának 15, 30, 60 és 120. percében történt. A sejteket centrifugáltuk és Cytochrom c (Sigma type III) 5×10^6 granulocita által történő redukciójukat 550 nm-en mértük 5 percig. Ugyanezt Calcium ionofor A23187 (10^{-7} M, Calbio-

chem) és PMA (10^{-8} M, Sigma) stimuláció alatt is megnéztük.

4.2.10.4. H₂O₂ termelésének mérése

A H₂O₂-ot Pick és Keisari (1980) metodikája szerint mértük, melynek lényege a H₂O₂ által történő, forma peroxidáz által katalizált fenol vörös oxidációja. 2×10^6 granulocitát használtunk 2×10^7 élesztő sejthez 1,0 ml HBSS-ben. Ca ionofor és PMA stimuláció után is hasonló módon mértük a H₂O₂ termelését.

A H₂O₂ termelésének meghatározását különböző koncentrációju Met-enk hozzáadásával is elvégeztük. Naloxon hatását is vizsgáltuk a termelésre, melyet 15 perccel a mérés előtt adtunk a rendszerhez. A H₂O₂ termelést minden koncentráció esetében 30 percig mértük.

4.2.10.5. Glutation peroxidáz (GSHPx) aktivitás mérése

A glutation aktivitást Paglia és Valentine (1967) metodikája szerint, Holmes és mtsai (1970) módosítása alapján határoztuk meg a glutation reduktáz (Sigma) jelenlétében. Élesztő sejtek, Ca ionofor és PMA jelenlétében is meghatároztuk a glutation peroxidáz (GSHPx) aktivitást, különböző időpontokban.

4.2.10.6. Glutation reduktáz aktivitás mérése

A glutation reduktáz (GR) mérése Beutler (1975) metodikája szerint történt, változtatás nélkül.

4.2.10.7. Redukált és oxidált glutation mérése

Ezek meghatározása Hissin és Hilf (1976) metodikája szerint történt. Granulocitákat (5×10^6 sejt) inkubáltunk minden stimulus nélkül és 5×10^8 élesztő sejt jelenlétében is. A reakciót különböző inkubációs időkben fagyasztással roncsolással leállítottuk, amit fehérje precipitáció követett HPO_3 -mal.

4.2.11. Intralizoszómális enzimek kiáramlásának mérése

4.2.11.1. Kísérleti körülmények

A sejteket HBSS mediumban szuszpendáltuk és egy végső sejt denzitást értünk el, ami $2,5 \times 10^6$ sejt/ml volt a β glükuronidáz, míg 10^7 sejt/ml az elasztáz esetében. A sejteket 60 percig $10 \mu\text{g/ml}$ Cytochalasin B-val (CB) (Calbiochem), 10^{-6} M Ca ionofor (Calbiochem) és $50 \mu\text{g/ml}$ LDL-el inkubáltuk ASSAB CO_2 termosztátban 37°C -on. Inkubáció után a sejteket centrifugáltuk és az enzim aktivitásokat a mediumban mértük.

4.2.11.2. β Glükuronidáz aktivitás mérése

Brittinger és mtsai (1968) metodikája szerint végeztük a fenolftalein glükuronid szubsztrát (Serva) segítségével. A fenolftalein mennyiségét spektrofotométerrel mértük 18 órás inkubáció után. A sejteket ($2,5 \times 10^5$ granu-

locita) Tris pufferben szuszpendáltuk L-glutamin és glukóz jelenlétében. +4 °C-on történő centrifugálás után a felülúszó és az üledék aktivitását meghatároztuk.

4.2.11.3. Elasztáz aktivitás mérése

Hornebeck és mtsai (1983) módszere szerint végeztük el kevés változtatással. A felülúszó 25 %-os hígításának 1,0 ml-éhez 20 μ l N-Succinyl (L-alanyl)₃ p nitroanilidet DMSO-ban oldva adtunk, melyet tovább hígítottunk Tris pufferben, 5 mg/ml végleges koncentrációig. 15 órás inkubáció után az abszorpciót 410 nm-en mértük.

4.2.11.4. Laktát dehidrogenáz (LDH) aktivitás mérése

Dioguardi és mtsai (1963) metodikája alapján történt az LDH aktivitás mérése, kevés módosítással (Ká-vai és mtsai 1983).

4.2.11.5. LDL szeparálása

A humán LDL szeparálása Cornwell (1961) metodikája szerint történt.

4.2.12. ABNA fluorogén szubsztráttal való enzim aktivitás mérése

Az L-alanil β naftilamid (ABNA)-specifikus enzim aktivitás meghatározása az ABNA fluorogén szubsztrát alkal-

mazásával Hitachi-NK spektrofluoriméter segítségével történt. 5×10^5 élő granulocitához, melyet előzőleg 400 μ l pufferben oldottunk, 10 μ l szubsztrátot adunk 10 μ l volumenhez. Az ABNA specifikus aktivitást feltárt granulocitákon (fagyasztás, ultrasonifikáció) mértük. 37 °C-on, állandó rázás közben a 318 nm-en indukált ABNA fénykibocsátása 480 nm-en volt mérhető speciális mikroquartz küvetében. Ugyanílyen kísérleti körülmények között vizsgáltuk az ABNA specifikus enzim aktivitást, amikor is a rendszerhez puromicint (10^{-5} M), EACA-t (200 μ g/ml), Met-enk-t (10^{-5} M) és Angiotensin II-t (AtII, 10^{-5} M) adtunk, amelyeket DMSO-ban oldottunk.

4.2.13. Intracelluláris cAMP és cGMP szintek mérése

Az intracelluláris cAMP és cGMP szinteket meghatároztuk fagocitózis előtt és 15, 30, 60, 120 perces inkubáció után. A cAMP és cGMP meghatározásokat ugyanezen időpontokban elvégeztük különböző koncentrációju Met-enk (10^{-8} - 10^{-5} M), AtII (10^{-8} - 10^{-5} M) és Izoproterenol (IP) (10^{-6} M) hozzáadása után is. Naloxont 10^{-5} M koncentrációban a Met-enk-nal történő kezelés előtt 15 perccel adtuk a granulocitákhoz. Az IP-lal történő stimulálást a granulociták Met-enk-nal való inkubálásának 60. percében kezdtük el. A kontroll csoportban csak granulociták voltak minden más szubsztrát nélkül. Minden inkubáció itt is

ASSAB CO₂ termosztátban történt. A ciklikus nukleotidák meghatározásához a sejteket Stabinsky (1980) metodikája szerint preparáltuk. A méréseket a RIA kit (Amersham, England) útmutatásai szerint végeztük.

4.2.14. ⁴⁵Ca transzport mérése

4.2.14.1. ⁴⁵Ca beáramlás mérése

Monocita monolayereket készítünk Nunc-on petri csészékbe. Ehhez hozzáadjuk az 1 μ Ci ⁴⁵Ca-ot. Meghatározott időpontokban jéghideg Ca tartalmu pufferral (LaCl₃) mossuk. A méréshez felszívjuk a folyadékot a sejtekről és 0,2 %-os Na dodecil sulfáttal oldjuk a monolayert. 10 - 100 μ l mennyiséget teszünk bele a scintillációs koktéalba. A kontrollt a 0 perces minta képezi, ahol a sejtekhez a hozzáadott ⁴⁵Ca-ot azonnal le is szívjuk.

4.2.14.2. ⁴⁵Ca kiáramlás mérése

Az ismert sejtszámot tartalmazó monocita monolayereket HBSS-ben inkubáltuk 10⁻⁶ M Ca ionofor és 1 μ Ci ⁴⁵Ca jelenlétében 30 percig 37 °C-on. Ezután jéghideg 0,2 %-os humán albumint és 4 mmol LaCl₃-ot tartalmazó HBSS-el rendkívül gyorsan mostuk a monolayereket. Ezután 37 °C-on HBSS-t adtunk a monolayerekhez és a mintákból az indulás után 0, 5, 10, 30 és 60. percben a felülúszót le-

szívtuk és jéghideg LaCl_3 -ot tartalmazó médiummal a monolayereket mostuk, majd vákum leszívással szárítottuk. A monolayereket 0,2 % Na dodecil szulfátot tartalmazó oldat 1 ml-ével oldottuk és ebből az oldott sejteket tartalmazó folyadékból 50 - 100 μl mennyiséget tettünk a scintillációs koktélba.

5. EREDMÉNYEK

Komplex felmérést végeztünk egy szociális otthon lakói között egészségi állapotuk jobb megismerése, a rejtett betegségek felfedezése érdekében. A talált betegeket gondozásba vettük, illetve akiknél bizonyos betegségekre utaló predisponáló faktort találtunk, azokat rendszeresen figyeltük. A komplex szűrési vizsgálat során, a megvizsgált 200, magát egészségesnek valló, s a személyzet által is annak tartott idős ember közül csak 60 bizonyult egészségesnek. A klinikailag megvizsgált 200 idős ember közül 100 egyén fizikális státuszában nem találtunk elváltozást. Kiszűrtünk minden olyan egyént, akinél a különböző szervrendszerekben bármilyen eltérés volt. A fizikális vizsgálatot EKG és mellkas rtg. vizsgálattal, illetve szükséges esetekben további speciális célzott vizsgálatokkal egészítettük ki, melyek újabb kóros állapotokat tártak fel (pl. bal Tawara szárblock, repolarizációs zavar, stb.). Ezek után végeztük el a komplex laboratóriumi vizsgálatot, amelyek eredményeképpen még további kóros állapotok kerültek felszínre (pl. cukorbetegség, mérsékelt vérszegénység, stb.). Végül 60 idős embert találtunk "egészségesnek". Vizsgálatainkat az egészségesnek talált személyek körében folytattuk az öregedés adaptációs és szabályozó mechanizmusainak jobb megértése céljából.

5.1. Lipidek és szénhidrát anyagcsere

5.1.1. Lipid paraméterek

A fiatalok lipid értékei - mind az átlagok, mind az egyéni értékek - megfelelnek a középkorú populációnál elfogadott normális értékeknek (5. tábla). A szociális otthonban és az otthonukban élő idős emberek paraméterei (6. tábla) között szignifikáns eltérést nem találtunk. Az általunk mért lipid értékek idős emberek esetében is belül maradnak a középkorúakra vonatkozóan elfogadott normál határokon. Nem szerinti összehasonlításban az idős férfiak és nők összkoleszterin és LDL-chol értékei térnek el egymástól szignifikáns mértékben ($p < 0,01$). Mindkét lipid komponens a nők esetében magasabb.

Az idős és fiatal férfiak lipid paraméterei nem különböznek szignifikánsan. A nőknél az összkoleszterin, az LDL-chol, VLDL és triglicerid értékekben észlelhető korral emelkedés, de ez egyetlen esetben sem szignifikáns. A HDL-chol, a HDL és szérum húgysav értékét az idős nők körében alacsonyabbnak találtuk, mint a fiatal nőknél, de ezek az eltérések sem voltak szignifikánsak.

A lipidek vonatkozásában tehát lényegében normális értékeket találtunk idős korban is, még ha egyes paraméterek láthatólag - de nem szignifikánsan - el is tértek a fiatalokétól, akár a növekedés (összkoleszterin, LDL-chol,

5. tábla: Fiatal egészséges férfiak és nők zsírányagcsere értékei^x

Paraméterek	Férfiak n = 10	Nők n = 10
Koleszterin mmol/l	5,10 ± 0,97 (4,16 - 6,28)	5,47 ± 0,69 (3,98 - 6,25)
HDL-choI mmol/l	1,33 ± 0,38 (0,98 - 2,01)	1,94 ± 0,42 (1,41 - 2,55)
LDL-choI mmol/l	3,18 ± 0,89 (1,79 - 4,09)	3,04 ± 0,78 (1,88 - 3,66)
Triglicerid mmol/l	1,22 ± 0,37 (0,89 - 1,68)	0,85 ± 0,18 (0,47 - 1,02)
Szérum húgysav μmol/l	369,00 ± 42,26 (195 - 413)	375,60 ± 48,63 (252 - 410)
HDL %	35,80 ± 7,30 (30 - 45)	43,40 ± 3,90 (37 - 48)
VLDL %	26,00 ± 5,40 (18 - 37)	17,40 ± 3,50 (11 - 22)
LDL %	38,20 ± 4,52 (30 - 44)	39,20 ± 4,73 (30 - 45)

x A táblázatban az $\bar{x} \pm S.D.$ értékek szerepelnek, zárójelben az egyéni értékek alsó és felső határát mutatjuk be.

6. tábla: Idős egészséges férfiak és nők lipid és lipoprotein értékei^x

Paraméterek	F é r f i a k			N ő k		
	Szociális otthon n = 30	Magán lakás n = 20	Átlag	Szociális otthon n = 30	Magán lakás n = 20	Átlag
Koleszterin	5,65 ± 1,02 (4,81 - 7,02)	5,36 ± 0,78 (4,33 - 6,98)	5,51±0,90	6,79 ± 0,54 (5,46 - 8,27)	5,92 ± 0,82 (5,23 - 8,07)	6,36±0,68
HDL-choI	1,48 ± 0,36 (1,10 - 2,39)	1,23 ± 0,32 (0,90 - 1,62)	1,36±0,34	1,55 ± 0,38 (0,94 - 2,45)	1,34 ± 0,61 (1,07 - 2,90)	1,45±0,50
LDL-choI	3,52 ± 0,77 (2,35 - 4,90)	3,57 ± 0,54 (2,85 - 4,52)	3,55±0,66	4,46 ± 0,64 (3,80 - 5,25)	3,97 ± 0,27 (3,65 - 5,10)	4,22±0,46
Triglicerid	1,43 ± 0,64 (0,82 - 2,15)	1,36 ± 0,68 (0,92 - 2,05)	1,40±0,66	1,71 ± 0,88 (0,92 - 2,83)	1,53 ± 0,52 (0,97 - 2,99)	1,62±0,70
Szérum húgysav	320,43 ±63,44 (181 - 405)	305,32 ±56,17 (165 - 389)	312,88±59,81	289,30 ±87,47 (116 - 385)	293,62 ±82,38 (125 - 402)	291,46±84,93
HDL %	31,11 ± 8,44 (15 - 44)	30,56 ± 6,85 (17 - 42)	30,84±7,65	25,60 ± 7,51 (14 - 58)	28,37 ± 5,63 (18 - 47)	26,99±6,57
VLDL %	27,88 ± 9,43 (15 - 39)	30,15 ± 8,72 (19 - 35)	29,02±9,08	26,90 ± 9,28 (15 - 37)	27,81 ± 9,17 (14 - 39)	27,36±9,23
LDL %	38,39 ±10,94 (30 - 53)	39,12 ± 9,25 (35 - 49)	38,76±10,10	41,10 ±10,60 (27 - 52)	42,96 ±10,50 (30 - 55)	42,03±10,55

x A táblázatban az $\bar{x} \pm S.D.$ értékek szerepelnek, zárójelben az egyéni értékek alsó és felső határát mutatjuk be.

VLDL a nőknél), akár a csökkenés irányában (HDL, HDL-chol, szérum hűgysav nőknél). Eredményeink figyelemre méltóan bizonyítják, hogy korral a lipid értékek nem szükségképpen emelkedhetnek, de a magas értékek időskorban is kóros elváltozást jeleznek éppúgy, mint bármelyik más korcsoportban (Fülöp és mtsai 1985).

5.1.2. Glukóz anyagcsere és inzulin szekréció

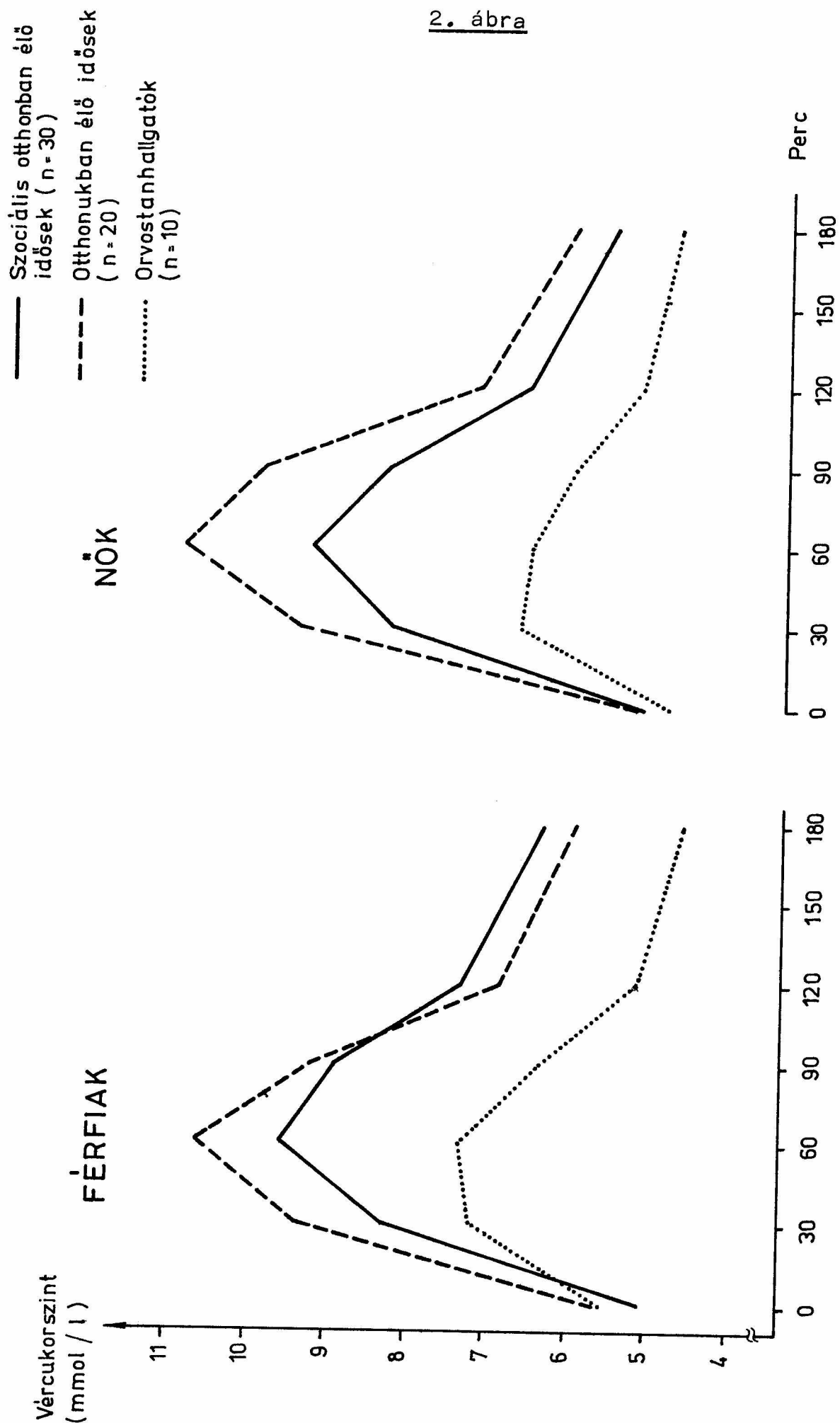
Vizsgálataink megerősítették a világirodalmi adatokat, miszerint a korral csökken a glukóz tolerancia.

Az idős férfiak vércukorszintje a kezdeti érték - 0 perces mérés - kivételével, minden időpontban szignifikánsan magasabb volt a fiatal csoporténál (2. ábra és 7. tábla). Az idősök két csoportjában a 0 és 30 perces vércukor szint tért el szignifikánsan.

A vizsgált nők esetében is szignifikánsan magasabb volt az idős csoportok vércukorszintje a fiatalokénál - kivéve itt is a kezdeti értéket. Az idős nők körében minden mérési pontban az otthon élők vércukorszintje volt magasabb. Ez arra utal, hogy a változás függhet az életkörülményektől és ezáltal befolyásolható lenne a helyes életvitellel (Fülöp és mtsai 1985).

Az OGTT alatt történő inzulin meghatározása nagyon fontos, mivel az inzulin szint csökkenése magyarázhatná a csökkent glukóz toleranciát. Az inzulin szint időbeni

A vércukorszint időbeli alakulása nem és kor szerint



7. tábla: A csoportok vércukorszintjének összehasonlítása a mérési időpontokban

Mérési idő (perc)	F é r f i a k			N ő k		
	F (2;57)	Sz - H t (57) értéke	Sz - O t (57) értéke	F (2;57)	Sz - H t (57) értéke	Sz - O
0	4,102 ***	2,203 **	0,254 n.sz.	2,447 **	1,156 n.sz.	-
30	9,147 ***	2,397 **	4,207 ***	2,613 **	14,489 ***	3,496 **
60	11,325 ***	3,702 ***	4,734 ***	1,669 n.sz.	23,192 ***	4,931 ***
90	11,440 ***	4,309 ***	4,516 ***	0,607 n.sz.	18,151 ***	4,234 ***
120	10,089 ***	4,480 ***	3,396 ***	1,111 n.sz.	7,155 **	2,923 **
180	11,057 ***	4,694 ***	3,563 ***	1,156 n.sz.	4,805 **	2,106 **
						5,373 ***
						6,817 ***
						6,027 ***
						3,768 ***
						1,359 n.sz.
						1,493 n.sz.

* : $p < 0,05$

** : $p < 0,01$

*** : $p < 0,001$

n.sz.: nem szignifikáns

Sz: Szociális otthonban élő idősek (n = 30)

O : Otthonukban élő idősek (n = 20)

H : Orvostanhallgatók (n = 10)

változását a 3. ábra szemlélteti. A 0. percben az idős és fiatal férfiak éppúgy, mint a nők azonos értékekkel indulnak. A továbbiakban minden mérési időpontban az idős korúak immunreaktív inzulin (IRI) szintje magasabb, de az eltérés csak a 60 perces időponttól válik szignifikánssá (8. tábla). Férfiak esetében végig az is marad. Nők körében a szignifikáns eltérés az idősek és fiatalok IRI szintje között eltűnik a 60 perc után.

Eredményeink összességében arra utalnak, hogy idős korban az inzulin kiválasztás megfelelő és stimulálható, így az idős kori csökkent glukóz tolerancia létrejöttében nem zárható ki - egyebek között - valamely receptor probléma fennállásának a lehetősége.

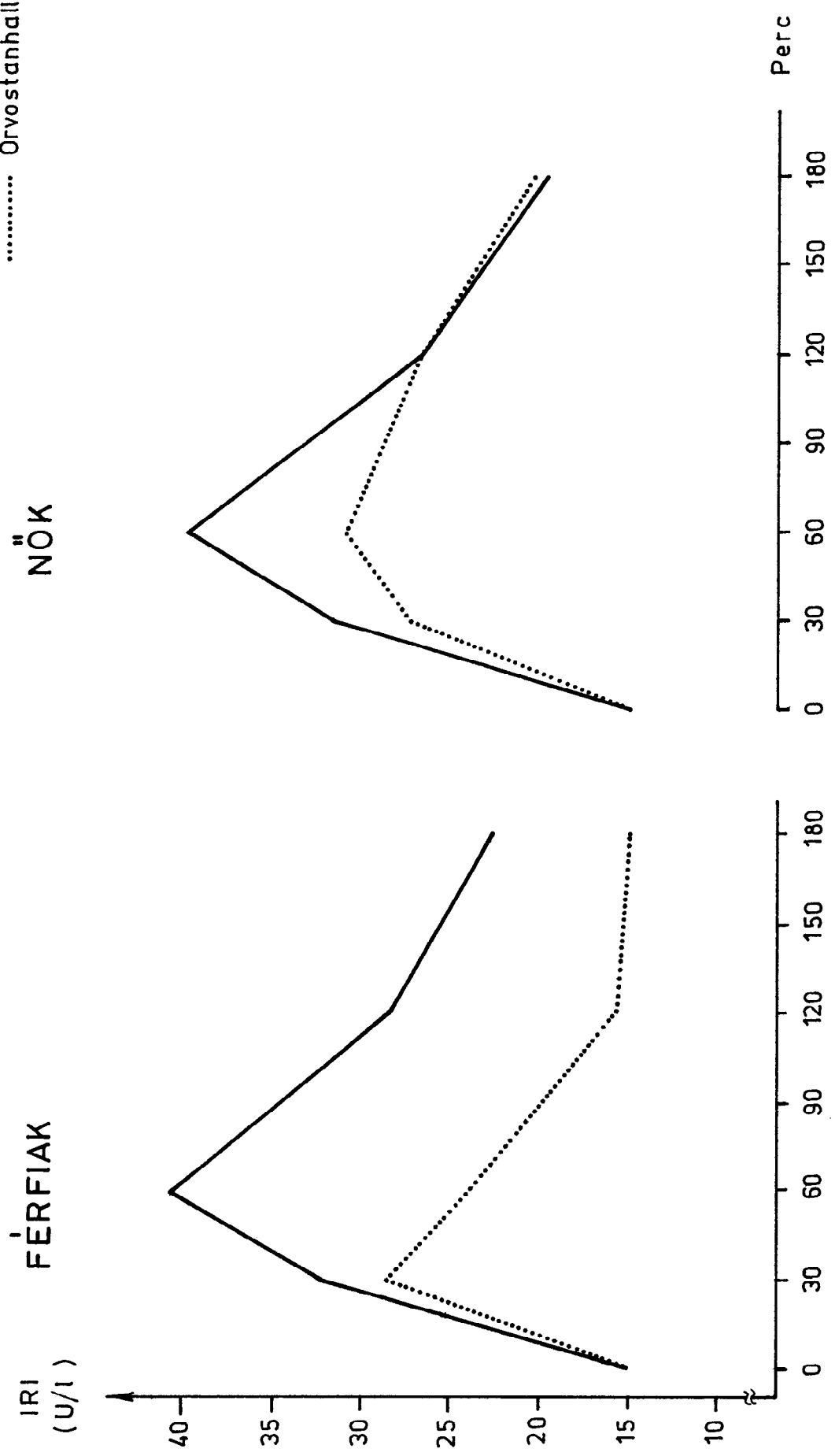
8. tábla: Az immunreaktív inzulinszintek összehasonlítása az egyes mérési időpontokban

Idő (perc)	Cso- port	F é r f i a k		N ő k	
		$\bar{x} \pm$ S.D.	t-érték	$\bar{x} \pm$ S.D.	t-érték
0	Sz H	$<15 \pm 0$	n.sz.	$<15 \pm 0$	n.sz.
30	Sz	$32,28 \pm 7,07$	1,136	$31,84 \pm 3,42$	0,905
	H	$28,61 \pm 1,42$	n.sz.	$27,44 \pm 10,32$	n.sz.
60	Sz	$40,56 \pm 5,39$	6,652	$39,54 \pm 4,56$	3,096
	H	$23,87 \pm 1,57$	***	$31,11 \pm 4,04$	*
120	Sz	$28,38 \pm 1,77$	14,553	$26,47 \pm 3,72$	0,004
	H	$15,59 \pm 0,85$	***	$26,49 \pm 10,45$	n.sz.
180	Sz	$22,75 \pm 3,52$	4,921	$19,77 \pm 2,10$	0,154
	H	$15,00 \pm 0,00$	**	$20,19 \pm 5,66$	n.sz.

Sz: szociális otthonban élő idősek; H: orvostanhallgatók

Az inzulinszint időbeli alakulása nem és kor szerint

- Szociális otthonban lakó idősek
- Orvostanhallgatók



3. ábra

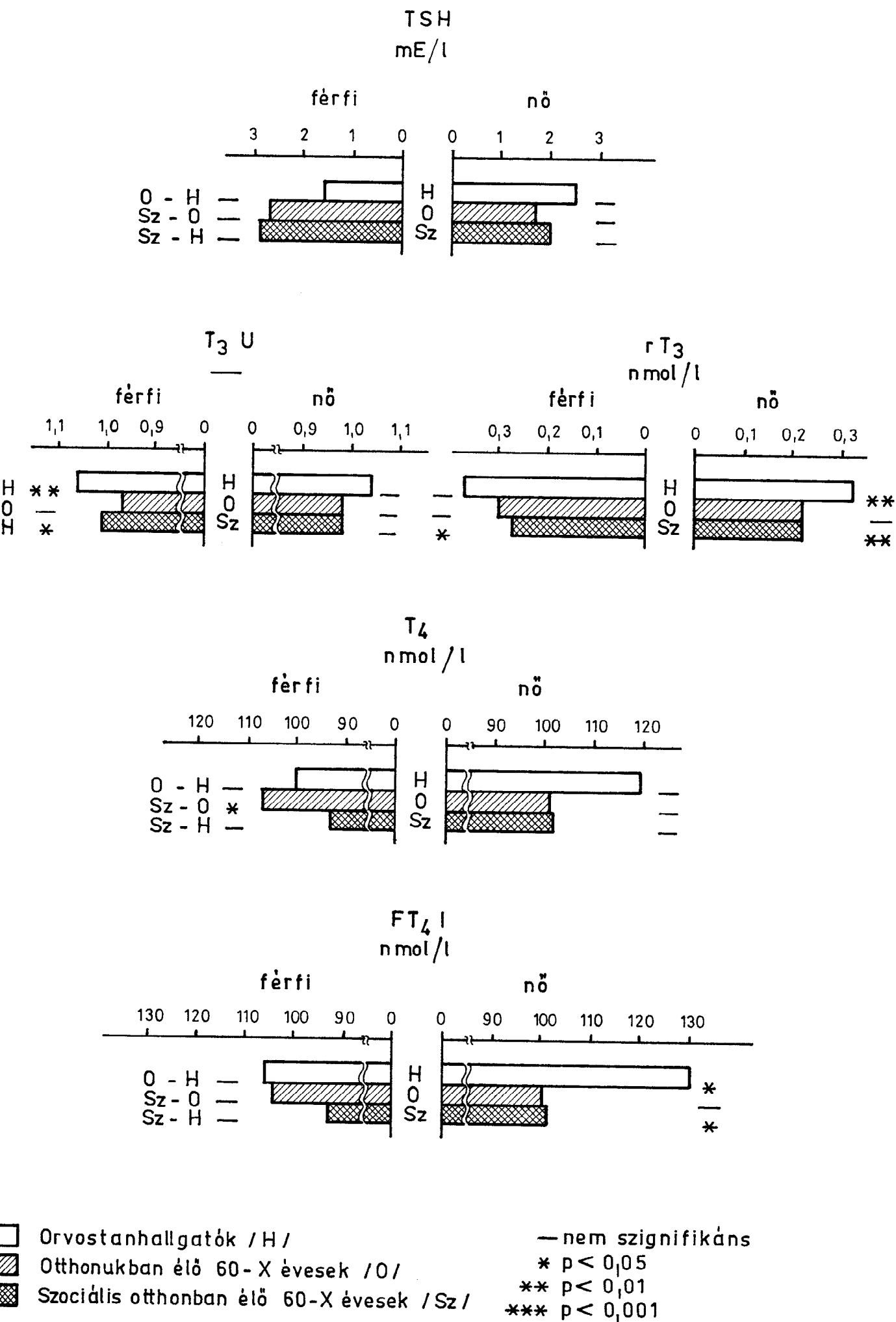
5.2. Hormonok

Az irodalomban nincsen egységes álláspont arra nézve, hogy a hormonok szintje hogyan változik a korral. Eredményeinket a 4a. és b. ábra tartalmazza. Nem találtunk szignifikáns különbséget az idősök két csoportja között, ugyanakkor az idősök és a fiatalok értékei között észlelt szignifikáns eltérés ellenére sem volt biológiaiilag jelentős különbség (minden érték a normál határokon belül maradt). Kivételt képez a PRA és az aldoszteron, ahol az idős korra bekövetkezett jelentős csökkenés 1 %-os, illetve 1 ‰-es szinten volt szignifikáns.

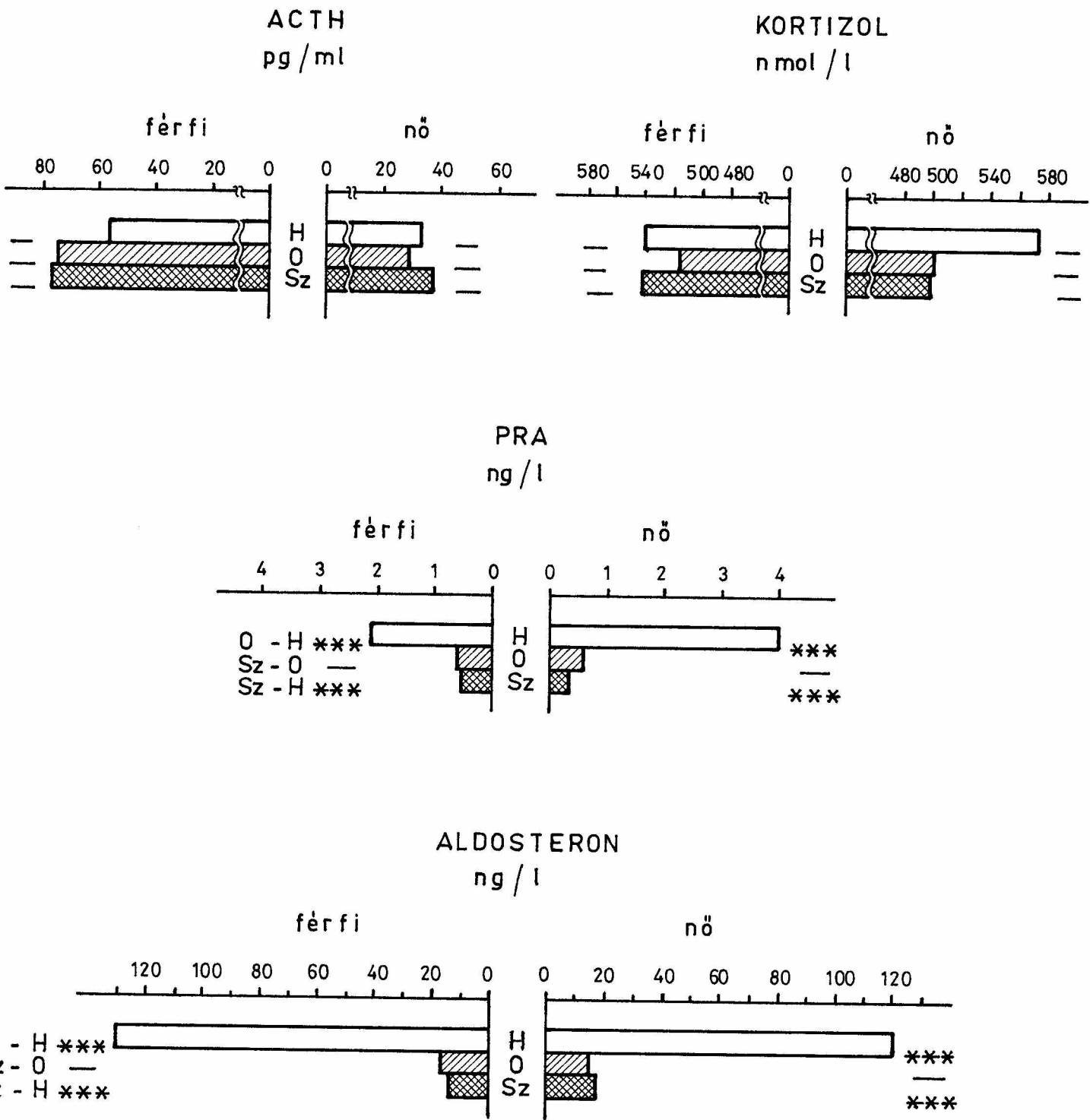
Eredményeink szerint tehát a vérben keringő hormonok szintje - a PRA és az aldoszteron kivételével - nem változik jelentősen a korral. Ugyanakkor ismert a klinikai gyakorlatban, hogy a rejtett endokrin kórképek száma igen nagy idős korban. Mindezek arra figyelmeztetnek, hogy a hormon szintek meghatározásával kapott eredmények csupán szűrő- és tájékoztató jellegűek lehetnek. Idős emberek endokrin státuszáról teljes képet csak stimulációs, illetve funkcionális vizsgálatok adhatnak, sőt tovább menve, végérvényesen a receptor vizsgálatok adják meg a választ (Fülöp és mtsai 1985).

5.3. Általános biokémiai, hematológiai, enzim és fehérje paraméterek

4/a. ábra: A pajzsmirigy hormonok változása kor és nem szerint



4/b. ábra: Az ACTH, kortizol, PRA és aldosteron változása
kor és nem szerint



5.3.1. Anorganikus elemek

A vizsgált anorganikus elemek közül csupán a szérumban a Ca és a P mutatott szignifikáns eltérést, de csak a férfiak körében (5. ábra). Az idős férfiak Ca és P szintje - a normál határokon belül - szignifikánsan alacsonyabb a fiatalokénál. Az idős férfiak P szintje a nőknél is alacsonyabb. A Ca és P szint korral történő változásával kapcsolatban nem egységes az álláspont, míg egyértelműen elfogadott, hogy a Na és K szint nem változik idős korral.

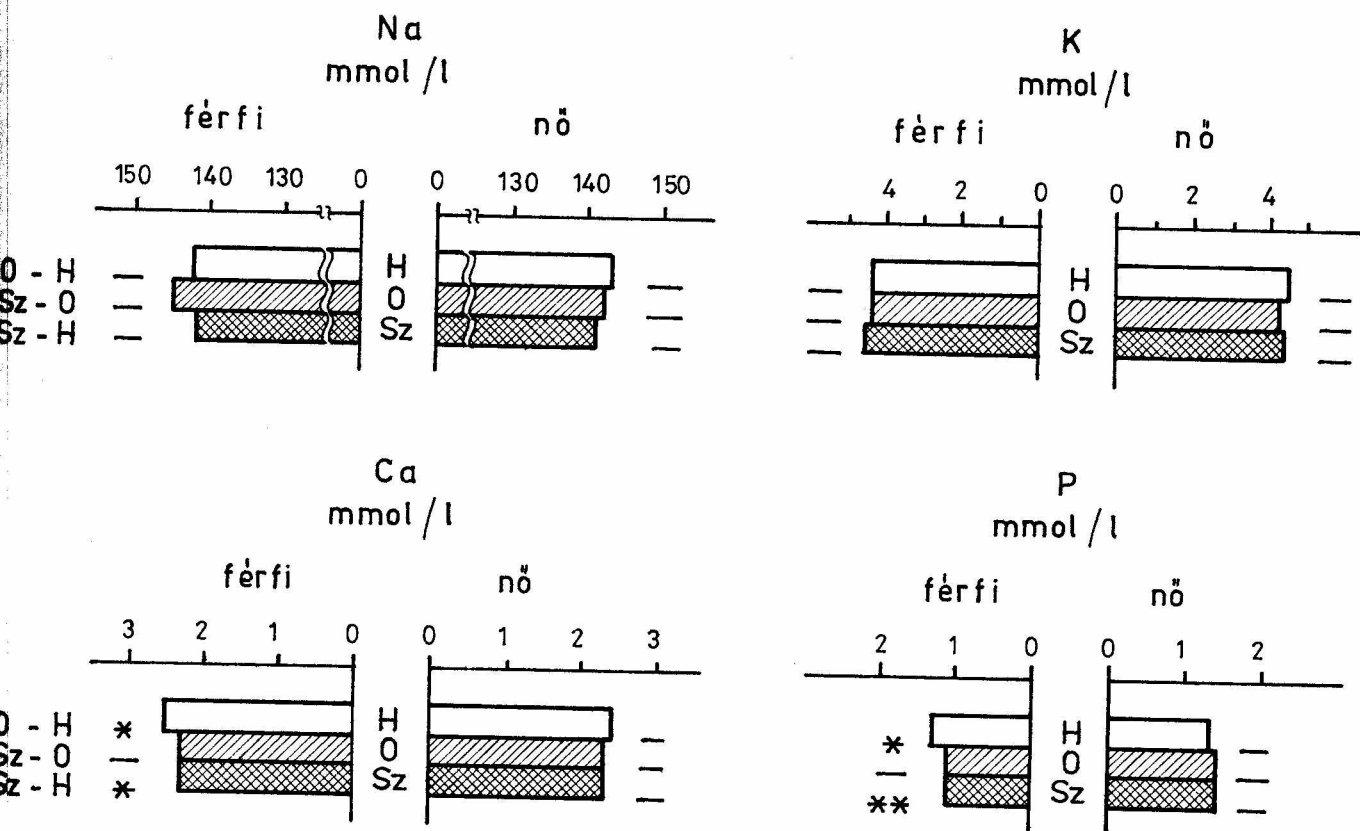
5.3.2. Hematológiai paraméterek

Az általunk vizsgált hematológiai paraméterek közül a Hgb és a vörösvérsejt (vvs) szám korral történő szignifikáns csökkenését, míg az MCV emelkedését figyelhettük meg férfiaknál és nőknél egyaránt (6. ábra). Ezeknek az eltéréseknek a biológiai jelentősége is figyelemre méltó. Ehhez társul még az idős férfiak esetében a Htc szignifikáns csökkenése is. Ugyanakkor mindkét nemben szignifikánsan magasabb volt az időskorúak vérsüllyedése a fiatalokénál, de az egyes csoportok átlagai sem a férfiak, sem a nők esetében nem haladták meg a normál határt.

5.3.3. Májenzimek

A májenzimek vonatkozásában a férfiak csoportjai között statisztikailag szignifikáns eltérést csak a SGOT

5. ábra: Anorganikus elemek változása kor és nem szerint



Orvostanhallgatók (H) 10 férfi és 10 nő

Otthonukban élő 60-x évesek (O) 20 férfi és 20 nő

Szociális otthonban élő 60-x évesek (Sz) 30 férfi és 30 nő

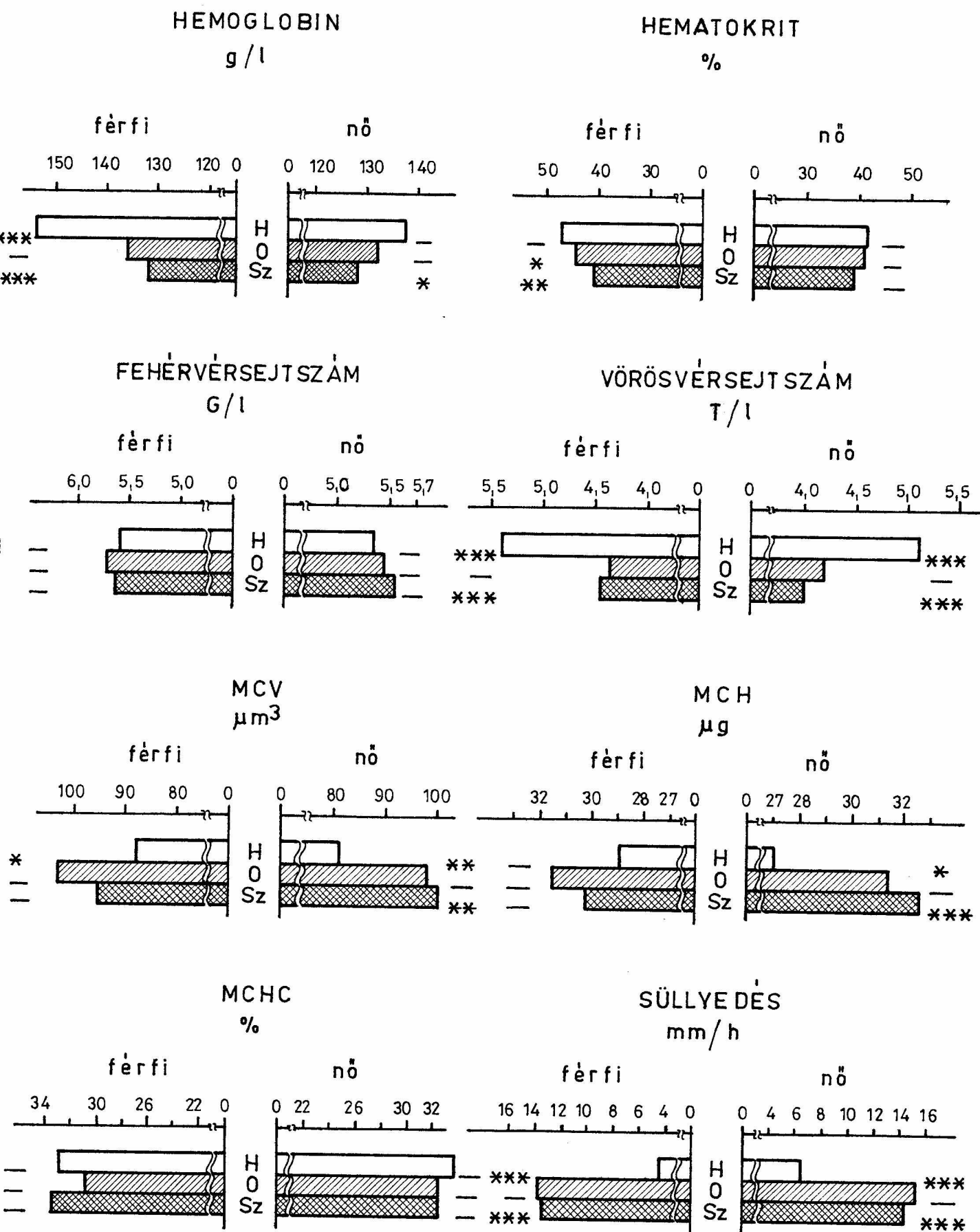
- : nem szignifikáns

* : $p < 0,05$

** : $p < 0,01$

*** : $p < 0,001$

6. ábra: Hematológiai paraméterek változása kor és nem szerint



Sz : Szociális otthonban élő időszerűak (30 férfi és 30 nő)
 O : Otthonukban élő időszerűak (20 férfi és 20 nő)
 H : Orvostanhallgatók (10 férfi és 10 nő)

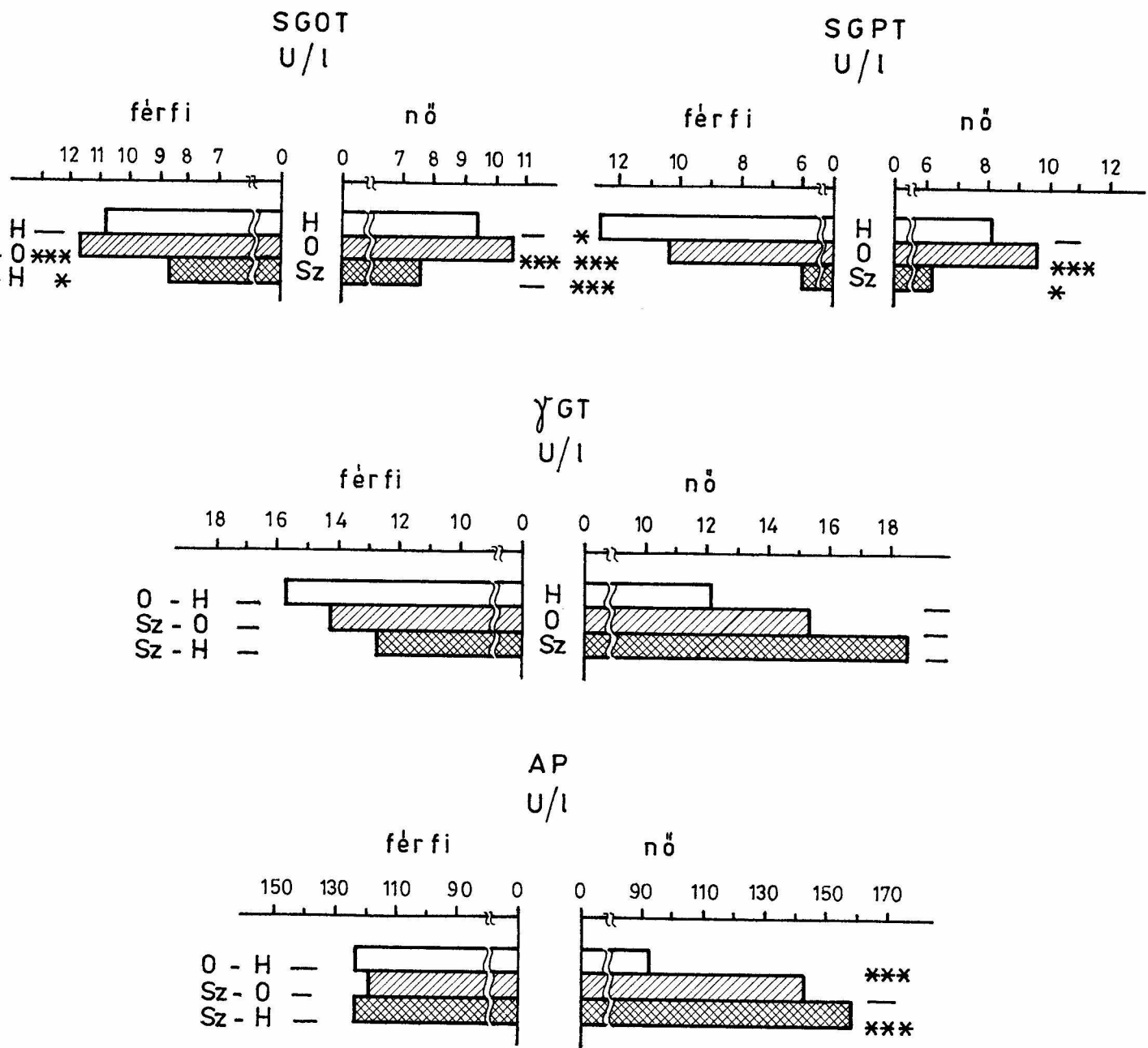
és a SGPT esetében észleltünk (7. ábra). Klinikailag azonban ezek az eltérések is jelentéktelenek, mivel minden csoport átlagos paramétere a normál határokon belül maradt. Nők esetében is hasonló a helyzet azzal az eltéréssel, hogy az alkalikus foszfatáz átlagos értéke mindkét időskorú női csoportban több, mint másfélszerese a fiatalokénak, a normális felső határt azonban még ezek az emelkedett értékek sem haladták meg. Ez megfelel az irodalmi adatoknak. A γ GT sem a férfiak, sem a nők körében nem különbözött a vizsgált csoportokban.

5.3.4. Fehérje anyagcsere paraméterek

Az összfehérje és komponensei értékeit a 8. ábra tartalmazza. Az összfehérje, az α_1 és β globulinok nem változtak a korral. Férfiak esetében az α_2 növekedett szignifikánsan, és - ha kevéssel is - túlhaladta a normális felső határt, míg nőknél nem változott a korral. Az irodalomban vagy emelkedést, vagy változatlan szintet írtak le. Egyértelmű viszont idős korban az albuminnak a normális szint alá történő csökkenése, ami megegyezik az irodalmi adatokkal (Jernigan és mtsai 1980). A γ globulinak a normális szint fölé történő szignifikáns emelkedését csak a vizsgált idős nők körében tapasztaltuk, szemben az irodalmi adatokkal, melyek mindkét nem esetében a γ globulin növekedését írják le.

7. ábra: Májenzimek szintjének alakulása kor és nem szerint

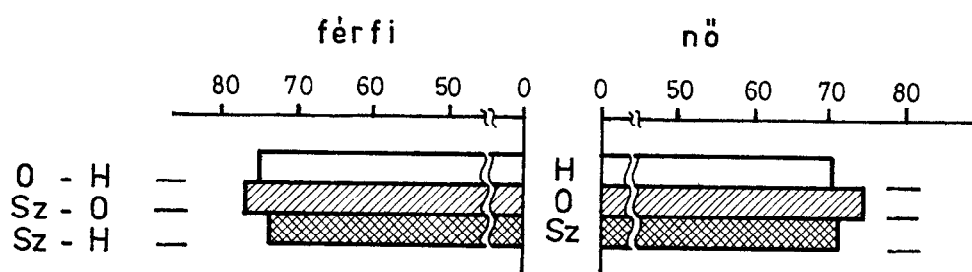
MÁJENZIMEK



8. ábra: Az összfehérje és komponensei kor és nem szerint

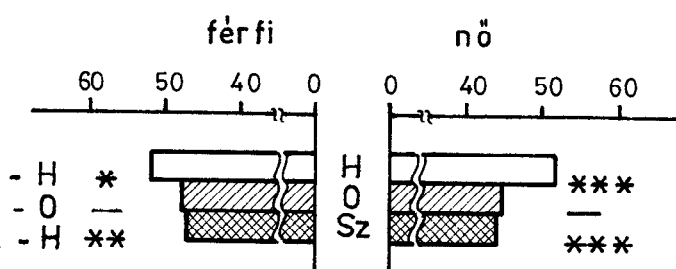
ÖSSZFEHÉRJE

g/l

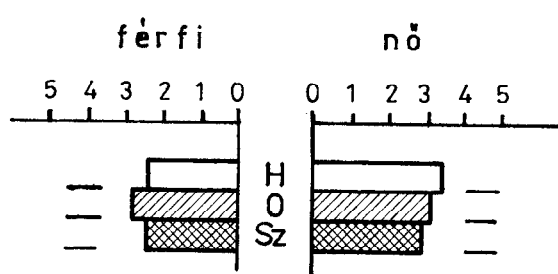


ALBUMIN

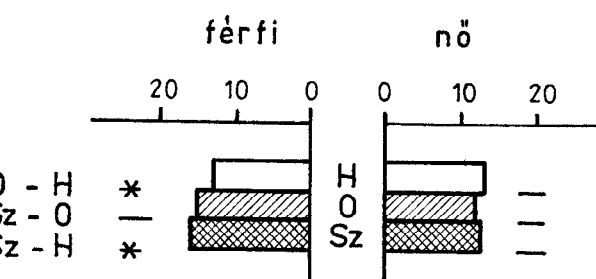
%



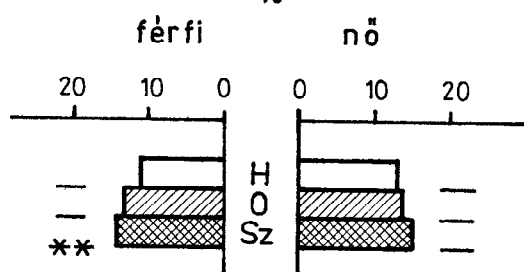
α_1
%



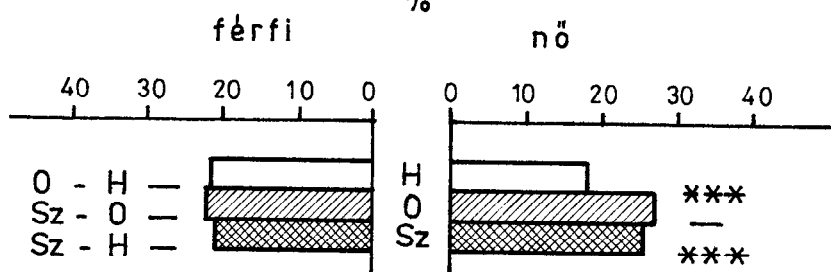
α_2
%



β
%



γ
%



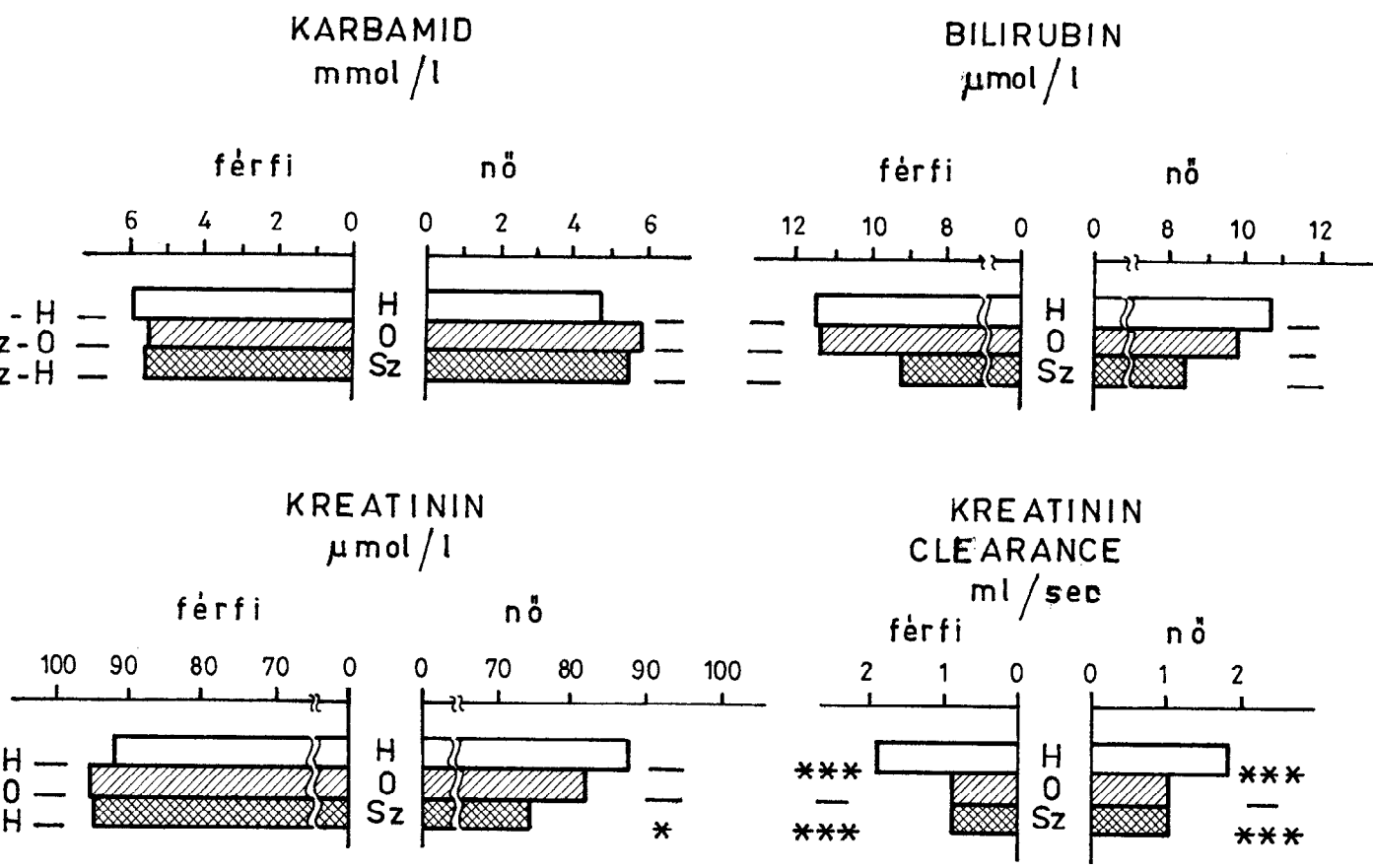
A karbamid és a kreatinin anyagunkban nem mutatott kor szerinti változást (9. ábra), ellentétben az irodalmi adatokkal, melyek növekedést írnak le. A bilirubin szintben sem találtunk változást a korral, míg az irodalom csökkenést ír le. A kreatinin clearance - az irodalmi adatoknak megfelelően - szignifikánsan csökkent a korral.

5.3.5. Immunparaméterek

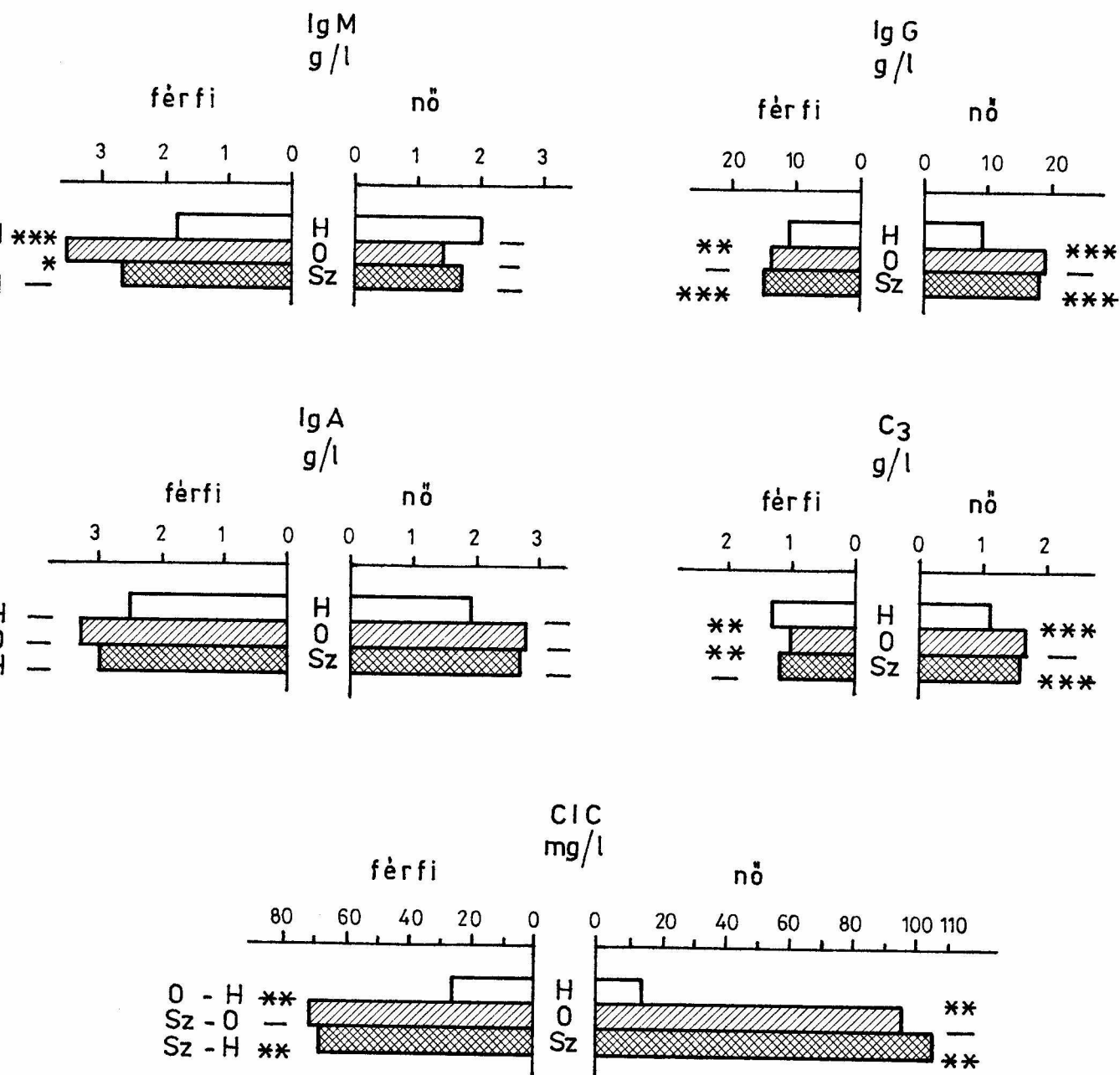
A vizsgált időskoru és fiatal csoportok között az immunparaméterek körében is észlelhetők voltak nemcsak statisztikai, hanem biológiai szempontból is jelentős különbségek (10. ábra). Férfiak esetében az IgM és a CIC paraméterek voltak jelentősen magasabbak idős korban. Az idős nők esetében pedig a CIC mellett az IgG paramétert kell kiemelnünk. Ez előbbi mintegy hétszerese volt a fiatal nők megfelelő értékének. Továbbá az IgA is emelkedő tendenciát mutatott a korral, az észlelt emelkedés azonban nem volt szignifikáns. Ezen eredmények, kivéve az idős férfiak emelkedett IgM értékét, megfelelnek az irodalom adatainak (Hallpen és mtsai 1973).

Vizelet analízis eredményeit külön nem részletezzük, mivel lényeges eltérést nem találtunk sem az idősek két csoportja, sem a fiatalok és idősek között a vizsgált paraméterekben (fajsúly, a, p, s, bili, ubg, ac, üledék).

9. ábra: A karbamid, bilirubin, kreatinin és kreatinin clearance változása kor és nem szerint



10. ábra: Immunparaméterek változása kor és nem szerint



5.4. Nyomelemek

A nyomelemek vizsgálatát az időskori táplálkozás jobb megismerése és a nyomelemeknek tulajdonított szerep jelentőségének növekedése (immunológia, enzim működés, íz érzés, stb.) miatt végeztük el. A vizsgált egyedek száma viszonylag kevés volt (20 szociális otthoni idős, 15 fiatal), amit a vizsgálat költségessége és munkaigényessége magyaráz. Három napi táplálkozás átlagát figyelembe véve, mind a szociális otthoni idősek, mind az orvostanhallgatók táplálkozási összetevői megközelítették a jelenleg érvényben lévő előírt normákat (Recommended Dietary Allowance).

A nyomelemek és néhány főelem értékeit a szérumban, granulocitákban és limfocitákban a 9. tábla tartalmazza. Meghatároztuk a Ba, Zn, Cu, Mn, Al, Li, Mo, Cr, Co, V, Ni, Fe, Na, Ca értékeket. Úgy tűnik, hogy mindegyik csökken a korral mind a három meghatározásra került mintában, ami fontos következményekkel járhat a szervezetre.

5.5. Testösszetétel

Ismert tény, hogy a szomatometriai paraméterek megváltoznak idős korban és részben ennek velejárójaként változhat a testösszetétel is. A testösszetétel változására vonatkozó adatok az irodalomban nem egyértelműek, néhol ellentmondóak. Különösen hiányoznak az egészséges idős csoportokra vonatkozó megfigyelések. Vizsgálataink során

9. tábla: Nyomelemek és egyes főelemek változása kor és nem szerint a szérumban, granulocitákban és limfocitákban

Para- méterek (elemek)	Fiatalok						Idősek					
	Férfiak (n = 15)			Nők (n = 15)			Férfiak (n = 20)			Nők (n = 20)		
	Se	Gr	Li	Se	Gr	Li	Se	Gr	Li	Se	Gr	Li
Al	0,36 +0,06	0,34 +0,008	0,16 +0,03	1,06 +0,76	0,36 +0,24	0,15 +0,08	0,28 +0,10	0,31 +0,12	0,12 +0,02	0,82 +0,23	0,05** +0,01	0,12 +0,09
Ba	0,063 +0,018	0,61 +0,23	0,71 +0,27	0,085 +0,032	0,47 +0,28	0,24 +0,18	mérhe- tetlen	0,09** +0,03	0,65 +0,15	mérhe- tetlen	0,10 +0,07	0,17 +0,12
Co	0,01 +0,005	0,35 +0,21	0,27 +0,12	0,002 +0,0007	0,18 +0,09	0,21 +0,12	0,007 +0,002	0,14 +0,09	0,20 +0,09	mérhe- tetlen	0,12 +0,05	0,17 +0,11
Cr	1,9 +0,83	0,19 +0,11	0,15 +0,10	0,81 +0,1	0,40 +0,27	0,15 +0,09	0,93 +0,57	0,04*** +0,009	0,13 +0,06	0,44 +0,12	0,04 +0,01	0,07 +0,01
Cu	1,13 +0,86	0,875 +0,32	0,04 +0,01	3,08 +1,89	0,19 +0,04	0,10 +0,05	0,81 +0,49	0,35 +0,15	0,01 +0,002	2,81 +0,98	mérhe- tetlen	0,03 +0,01
Li	0,003 +0,001	0,003 +0,0007	0,004 +0,001	0,0025 +0,0016	0,00006 +0,00002	0,00035 +0,00018	0,002 +0,0009	mérhe- tetlen	0,002 +0,0008	mérhe- tetlen	mérhe- tetlen	0,00027 +0,00019

Na	3400,0 +1800,0 +58,3	250,0 +76,8	232,0 +872,6	2450,0 +60,0	60,0 +28,6	340,0 +112,3	2800,0 +1230,0	182,0 +47,6	210,0 +68,7	2016,0 +976,0	48,0 +23,6	170,0 +72,3
Fe	2,66 +0,71	0,30 +0,18	0,20 +0,09	3,65 +0,89	0,41 +0,31	0,36 +0,22	2,64 +0,50	0,21 +0,15	0,13 +0,08	3,21 +0,97	0,18 +0,02	0,16 +0,05

értékek: $\bar{x} \pm S.D.$

nincs jelzés: nem szignifikáns

* $p < 0,05$

** $p < 0,01$

*** $p < 0,001$

Se: szérum ($\mu\text{g/ml}$)

Gr: granulocita ($\mu\text{g/millió sejt}$)

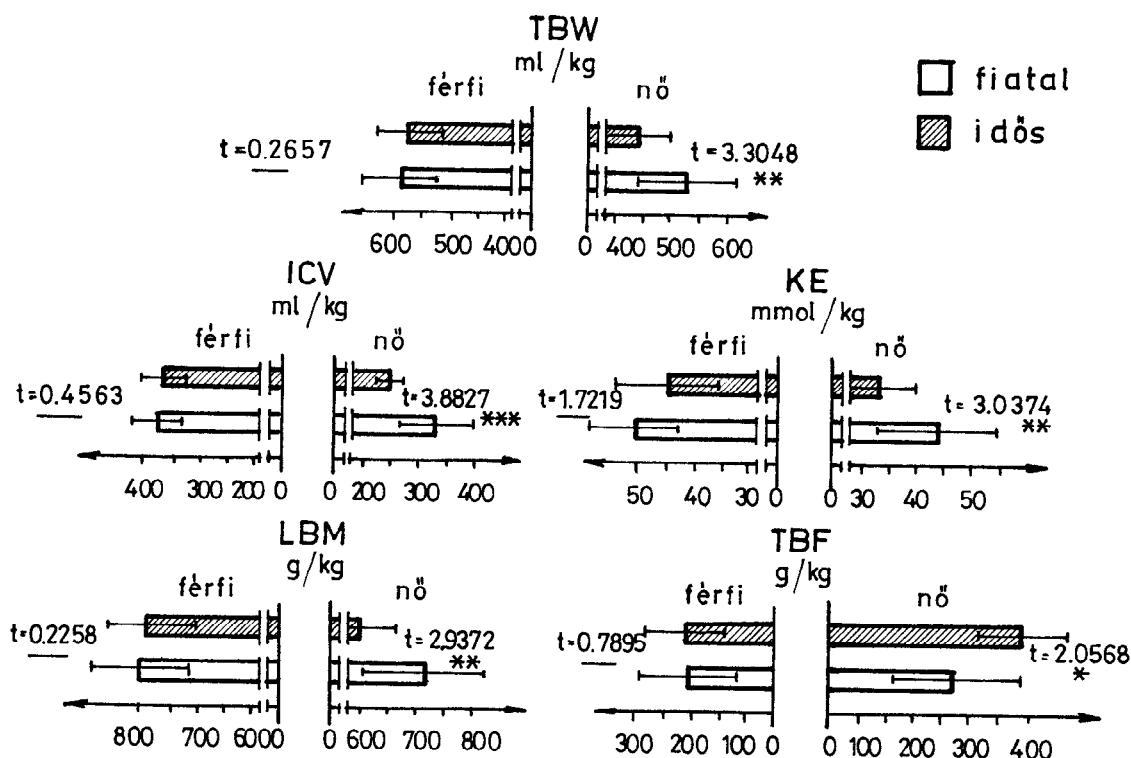
Li: limfocita

a testösszetétel elemzését - igen nagy költség- és munkaigényessége miatt - csak a szociális otthonban lakó, egészséges idősök és az összehasonlítás alapját képező fiatal csoportok körében végeztük el.

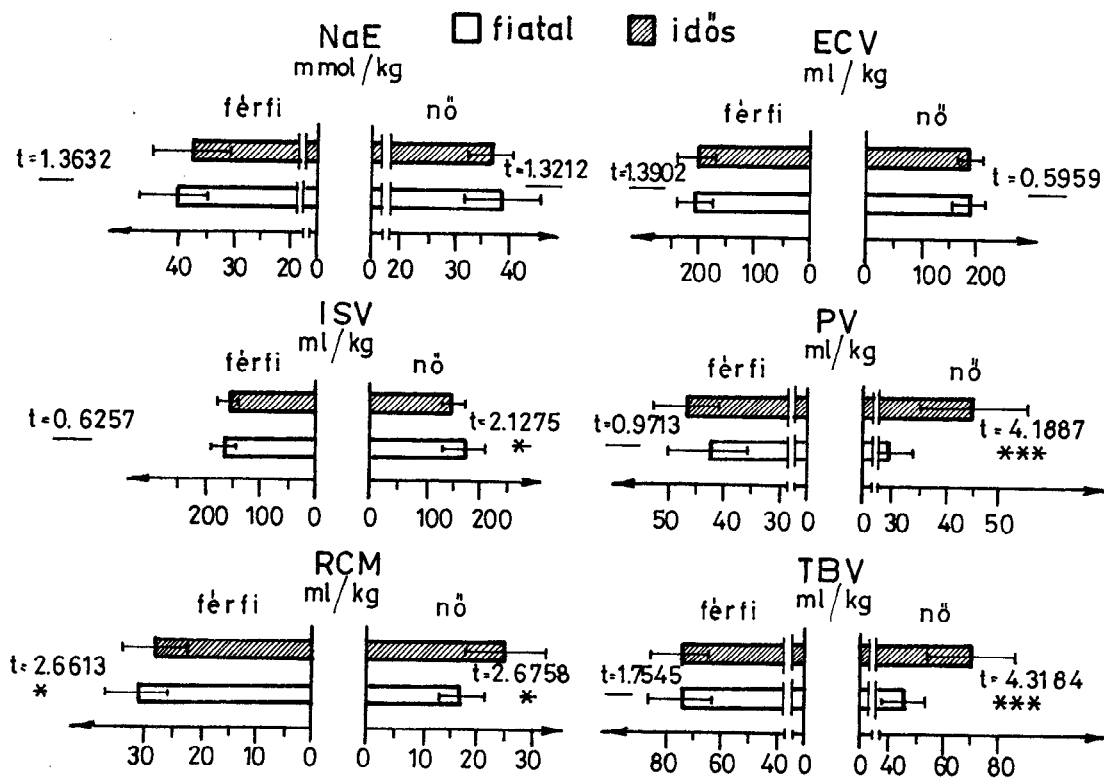
A testösszetételnek a két csoportra vonatkozó értékeit a 11a. és b. ábra és 10. tábla tartalmazza. Férfiak körében a testösszetevők többsége nem változott idős korban. A NaE és KE alacsonyabb, míg az RCM szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a fiataloké. A PV volt az egyetlen, amely emelkedési tendenciát mutatott idős korban. Nők esetében a paraméterek változásának az iránya - az RCM kivételével - megegyezett a férfiak körében észleltekkkel, a változás mértéke azonban, kifejezettebb volt. A TBW és az intracelluláris komponensek közül az ICV, KE és az LBM szignifikánsan csökkentek a fiatalokéhoz képest, ezzel szemben szignifikánsan nőtt a TBF. Az extracelluláris komponensek között az ECV majdnem ugyanakkora, az ISV szignifikánsan alacsonyabb, a NaE alacsonyabb, míg a vér összetevők (RCM, TBV és PV) értékei szignifikánsan magasabbak voltak a fiatalokéhoz viszonyítva. A testösszetétel változásai sokkal markánsabbak a nőknél, mint a férfiaknál (Fülöp és mtsai 1985).

Az eliminációs görbéket szemilogaritmikus koordináta rendszerben ábrázoltuk (12. ábra). A görbék az indocianin zöld (ECG) és a ^{22}Na esetében megegyeztek a fiatalokéval. A

11/a. ábra: A TBW és a testösszetétel intracelluláris komponensei



11/b. ábra: A testösszetétel extracelluláris komponensei



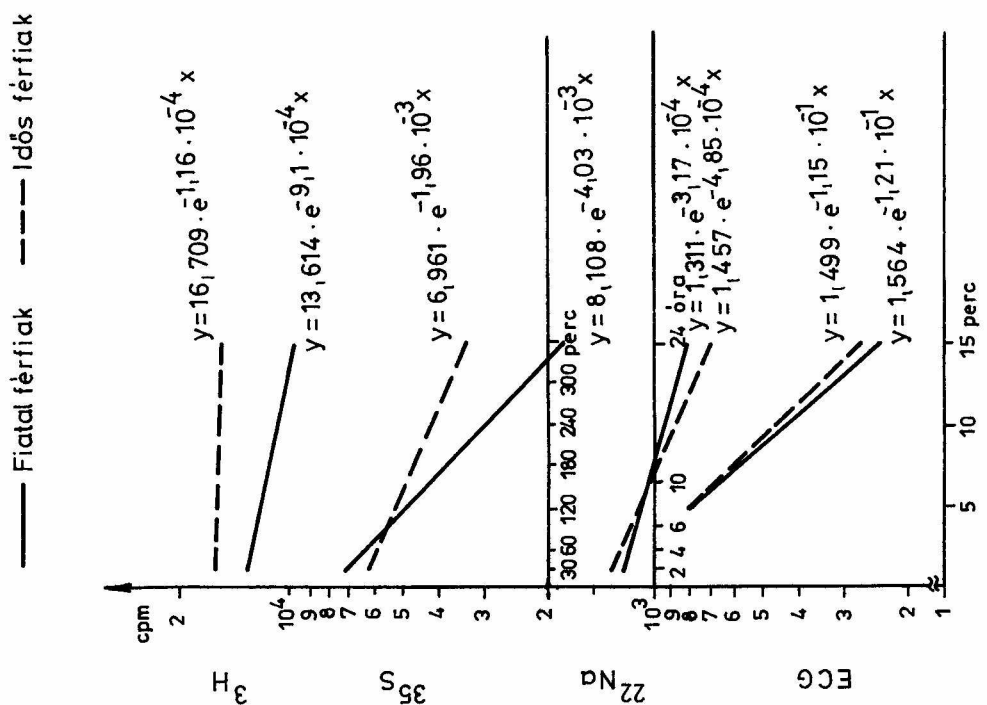
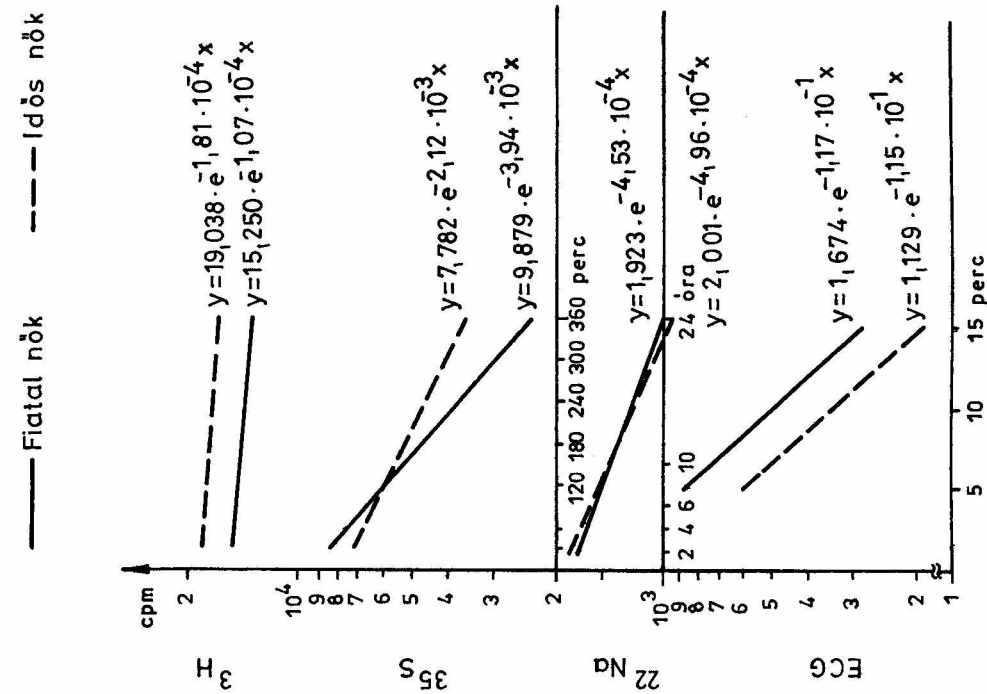
10. tábla: Testösszetevők alakulása kor és nem szerint*

Paraméterek	F é r f i		N ő	
	fiatal n = 10	idős n = 20	fiatal n = 10	idős n = 20
TBW ml/kg	586,1 ± 64,3	579,9 ± 54,4	531,0 ± 89,9	442,3 ± 57,3
ICV ml/kg	378,2 ± 42,3	375,7 ± 41,8	328,9 ± 64,7	248,3 ± 26,3
KE mmol/kg	51,3 ± 8,1	44,9 ± 8,8	44,24 ± 11,3	34,1 ± 5,9
LMB g/kg	800,7 ± 87,9	790,3 ± 78,1	725,4 ± 112,9	603,6 ± 77,8
TBF g/kg	199,3 ± 87,9	212,7 ± 66,2	274,6 ± 112,9	396,4 ± 77,8
NaE mmol/kg	40,9 ± 6,3	37,6 ± 6,7	38,7 ± 7,0	36,9 ± 3,9
ECV ml/kg	207,9 ± 30,8	204,2 ± 37,0	192,1 ± 31,0	192,6 ± 19,4
ISV ml/kg	167,7 ± 20,8	157,2 ± 19,7	172,5 ± 41,5	148,9 ± 21,2
PV ml/kg	43,2 ± 7,6	47,03 ± 6,2	29,6 ± 5,2	45,1 ± 10,1
RCM ml/kg	31,47 ± 5,7	28,13 ± 5,64	17,6 ± 4,2	24,9 ± 7,3
TBV ml/kg	74,7 ± 12,4	75,2 ± 9,0	45,2 ± 7,2	69,5 ± 15,7

*: $\bar{x} \pm S.D.$

Rövidítések magyarázatát lásd szövegben

12. ábra: A testösszetétel meghatározásához használt izotópok és cardiogreen eliminációs görbéi



ECG: Cardiogreen ^{22}Na : Natrium

^{35}S : Sulfát ^3H : Triciát

$^3\text{H}_2\text{O}$ és ^{35}S eliminációja különbözőnek tűnik ugyan, de az eltérés csak a ^{35}S esetében volt szignifikáns (férfiak: $p < 0,05$; nők: $p < 0,001$).

Eredményeink ráirányították a figyelmet arra, hogy a fiziológiás öregedés - bármily jó fizikai és pszichés státusz esetén is - az idős szervezet alkalmazkodó képességének csökkenésével jár együtt (pl. renin, aldoszteron, glukóz tolerancia, stb.), tehát a szabályozó mechanizmusok megváltoznak a korral. Vizsgálatainkat ezen a vonalon folytattuk tovább, vagyis szerettünk volna minél mélyebbre hatolni a szabályozó mechanizmusok világába. Vizsgáltuk a vízterek és az ezt szabályozó hormonok korral történő változásainak összefüggéseit.

Kimutattuk, hogy az általunk mért TBW, PV és NaE változik a korral és ugyanakkor a hormonok - melyek a só-vízháztartást szabályozzák (PRA és aldoszteron) - szignifikánsan csökkennek. Kézenfekvő volt tehát, hogy megvizsgáljuk van-e korreláció a testösszetétel változása és a hormon változások között. A korreláció értékeit a 11. tábla tartalmazza. Erős szignifikáns korrelációt találtunk az általunk mért testösszetevők és a PRA, illetve az aldoszteron között. A többi hormonnal nem tudtunk szignifikáns korrelációt kimutatni (Wórum és mtsai 1984).

Feltételezésünk szerint a só- vízháztartás egyik alapvető meghatározója a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer.

11. tábla: A vizsgált hormonok és testösszetevők korrelációi

		Férfiak esetében	Nők esetében
Renin			
	TBW	0,529**	0,6555**
	NaE	0,588**	0,799**
	ECV	0,544**	0,4358**
	PV	-0,7439**	-0,544**
Aldoszteron			
	TBW	0,378**	0,476**
	NaE	0,425**	0,5111**
	ECV	-0,77**	-0,5924**
	PV	-0,5295**	-0,6832**
Tiroxin (Tn)			
	TBF	-0,148	-0,1966
	TBW	0,103	0,256
	NaE	-0,232	-0,190
	ECV	-0,088	-0,162
	PV	0,132	0,168
Reverz trijódttironin (rT3)			
	TBF	0,005	0,007
	TBW	0,2386	0,313
	NaE	0,0037	0,0575
	ECV	0,0758	0,0814
	PV	-0,231	-0,202
Kortizol			
	TBF	-0,171	-0,369
	TBW	0,0871	0,337
	NaE	0,290	0,199
	ECV	0,307	0,257
	PV	-0,219	-0,276
ACTH			
	TBF	-0,100	-0,318
	TBW	0,220	0,318
	NaE	0,135	0,428*
	ECV	-0,430*	-0,382
	PV	-0,163	-0,254

* : $p < 0,05$

** : $p < 0,01$

nem szignifikáns: a jelzés nélküli értékek

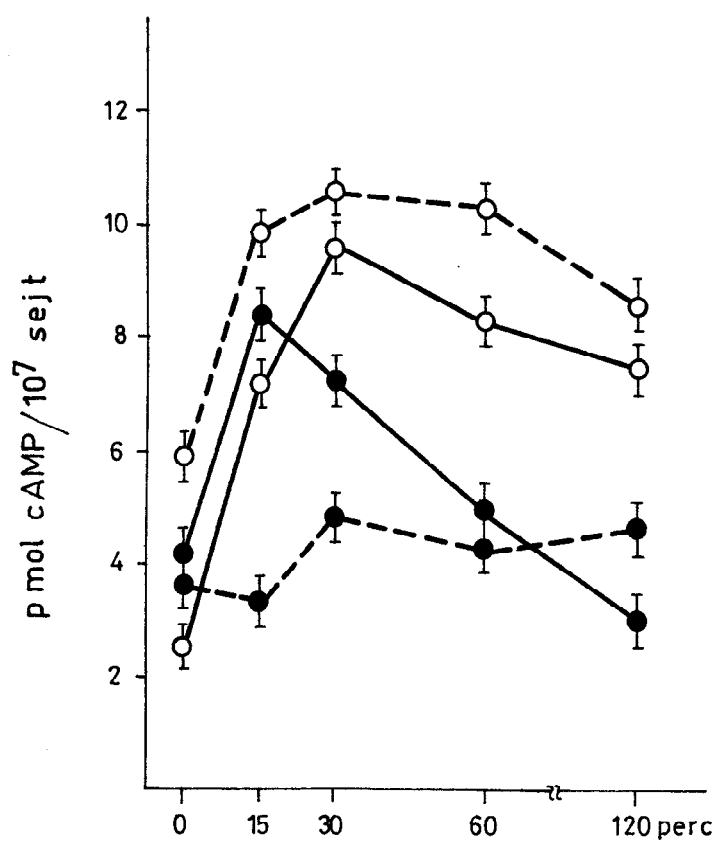
Tudtuk azonban, hogy a hormonszintek mérése önmagában nem adhat megfelelő információt a rendszer működéséről. Egyre inkább elterjed a klinikumban, hogy a vér alakos elemeinek receptorait vizsgálják az endokrin státusz jobb megismerése érdekében (pl. inzulin receptor monocitán és vvs-en). Ezért minket is foglalkoztatott, hogy a renin hatására keletkező AtII milyen hatást gyakorol a sejtekre idős korban, mivel maga az aldoszteron is csökken a korrall. A granulocitákat felhasználva, próbáltunk adatokat nyerni arról, hogy hogyan hat a sejtekre az AtII a receptorokon keresztül. Vizsgáltuk továbbá azt is, hogy hogyan alakul az AtII bontása az angiotenzináz által.

5.6. A granulociták AtII receptorainak működése

5.6.1. Adenilát cikláz gátló aktivitás

A granulociták AtII receptorainak adenilát cikláz gátló aktivitását vizsgálva fiatalok és idősök esetében 10^{-6} M, adenilát cikláz stimuláló, IP-t adtunk a granulocitákhoz 10^{-8} M AtII-vel való 60 perces előkezelés után (13. ábra). A fiatalok granulocitáiban a cAMP szint erősen emelkedett és az inkubáció 15. percében érte el a maximumot. Az AtII önmagában nem befolyásolta a granulociták cAMP szintjét, azonban az IP egy további adenilát cikláz stimulációját kivédte. Idősökben a 0 perces cAMP szint

13. ábra: A cAMP szint változása a granulocitákon IP hatására kor és nem szerint és 10^{-8} M AtII előkezelés után



AtII: Angiotenzin II

IP: Izoproterenol

Idősek: ---○--- AtII + IP; —○— IP

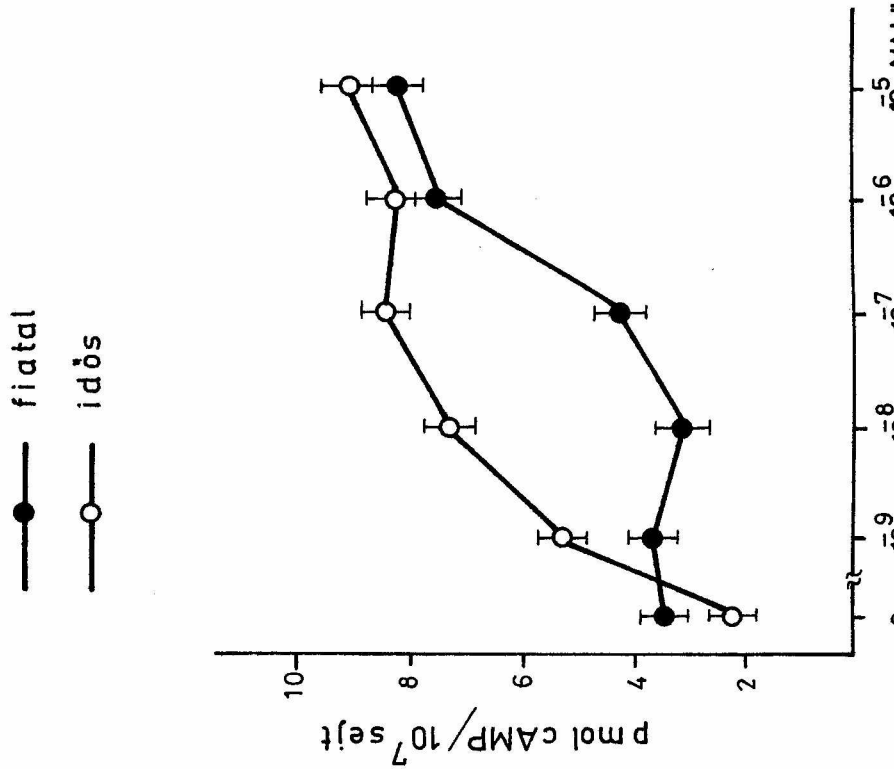
Fiatalok: ---●--- AtII + IP; —●— IP

eleve alacsonyabb volt a fiatalokénál és az IP okozta stimuláció erősebb cAMP szint emelkedést eredményezett. A megemelkedett cAMP szint nem ment vissza az eredeti szintre a 120 perces inkubáció ideje alatt. Az AtII önmagában is emelte a cAMP szintet az idősök granulocitáiban és - a fiatalokéval ellentétben - az IP képes volt ezt tovább fokozni.

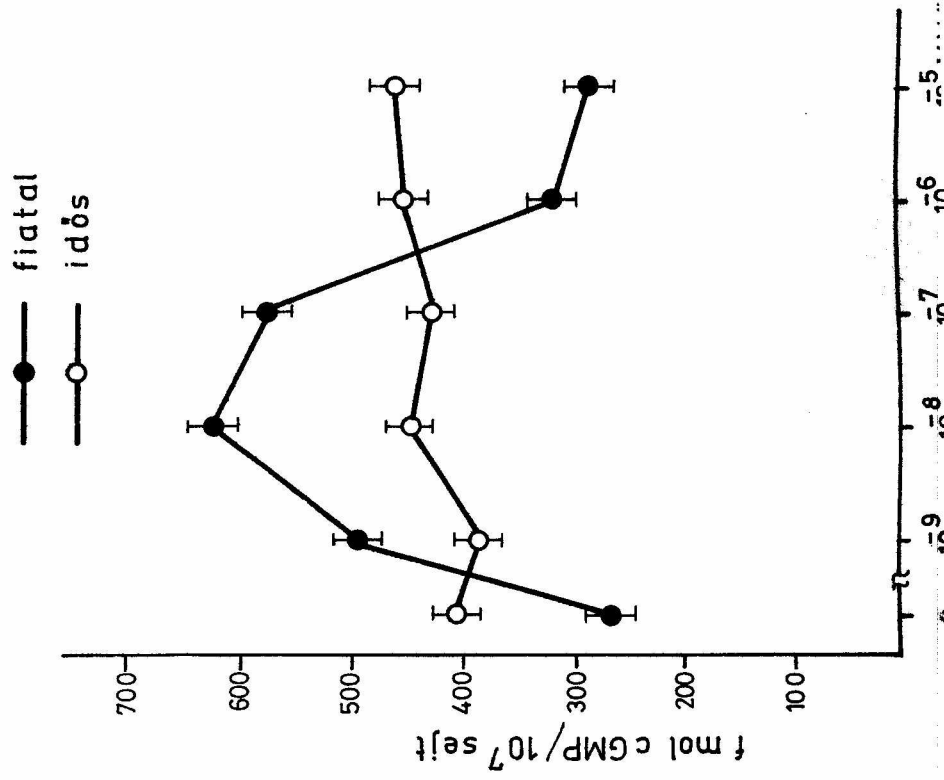
A 14. ábra az intracelluláris cAMP szintet mutatja az inkubáció 30. percében, 10^{-9} - 10^{-5} M AtII jelenlétében. A fiatalok granulocitáiban a cAMP szinteket csak a hormon nagyobb koncentrációi (10^{-6} - 10^{-5} M) emelték, míg az idősök granulocitáiban a hormon összes koncentrációja emelte a cAMP szintet. Ezek az eredmények azt bizonyítják, hogy idős korra a granulocitákban az AtII hormon receptorok funkcionálisan megváltoznak.

A 15. ábra a cGMP szint változásait mutatja különböző AtII koncentrációk hatására granulocitákban. 10^{-9} - 10^{-7} M koncentráció tartományban az AtII növelte a cGMP szintet a fiatalok granulocitáiban, míg nagyobb koncentrációban (10^{-6} - 10^{-5} M) - valószínűleg a receptor down-reguláció következtében - a cGMP szint nem változott. Ezzel ellentétben az idősök granulocitáiban az AtII semmilyen koncentrációban sem tudott cGMP szint változást kiváltani. A cGMP alapszint az idősök granulocitáiban magasabb volt, mint a fiatalokéban.

14. ábra: Az intracelluláris cAMP szint változása fiatalok és idősek granulocitáiban különböző koncentrációjú AtII hatására



15. ábra: A cGMP szint változása fiatalok és idősek granulocitáiban különböző AtII koncentráció hatására

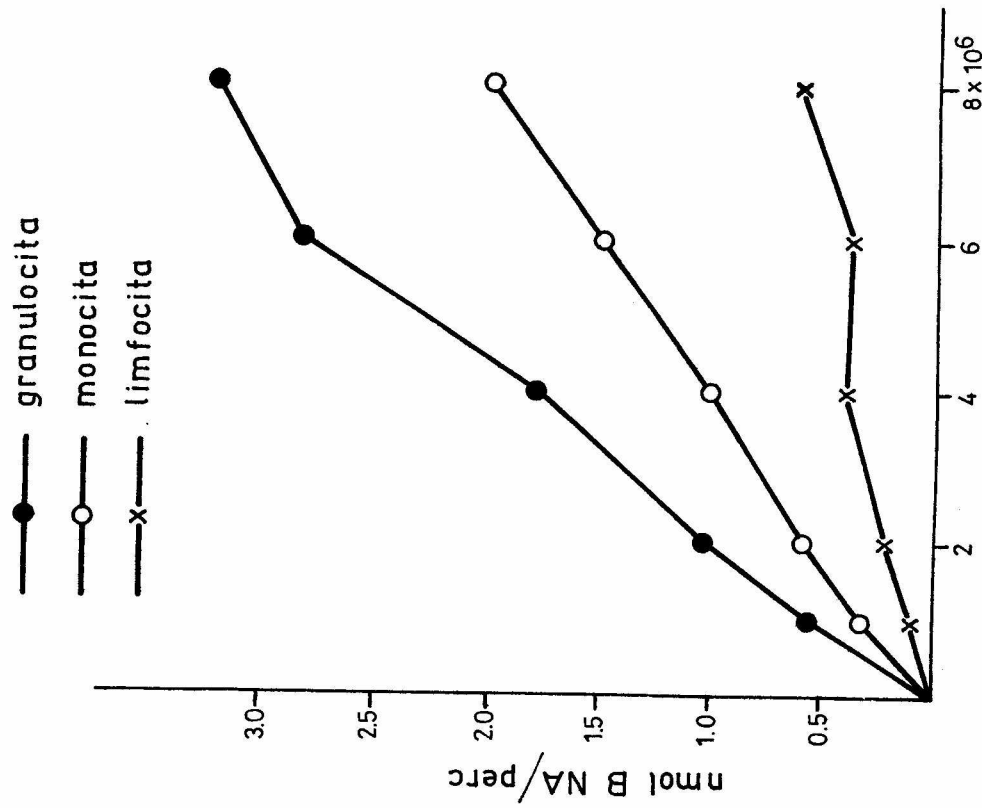


5.6.2. Angiotenzináz aktivitás

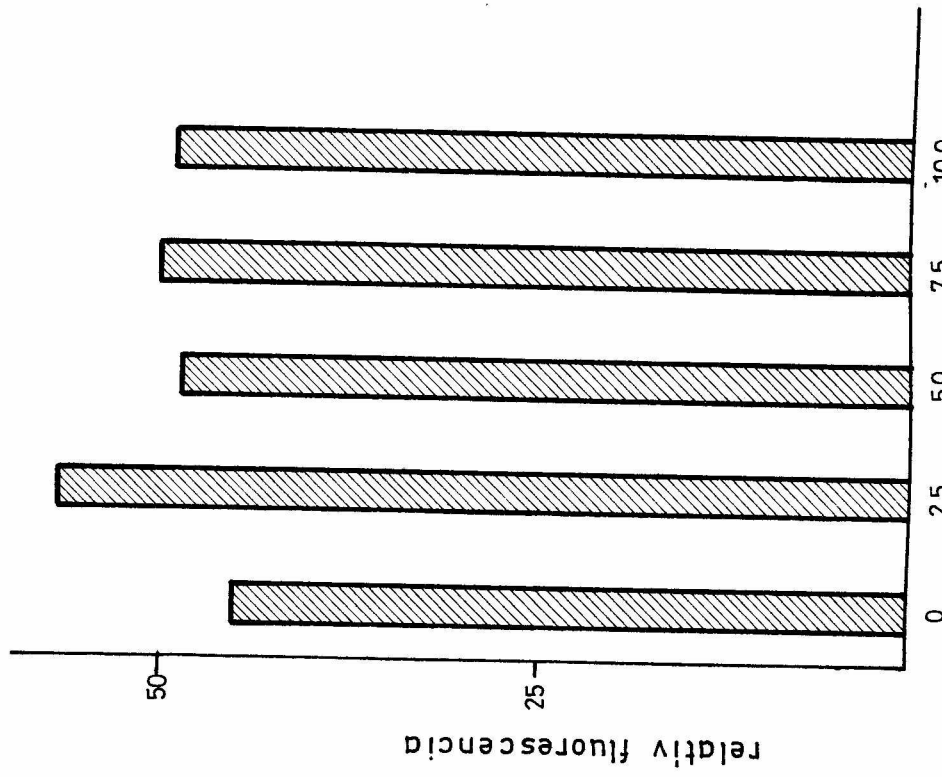
Kísérleteink második részében az AtII bontását az angiotenzináz aktivitás mérésével vizsgáltuk meg granulocitákon. Az angiotenzináz (At-áz) aktivitását L-alanil- β -naftilamid (ABNA), fluorogén szubsztrát segítségével mértük, melyet az At-áz és metenkefalináz is bont. Az ABNA-specifikus aktivitást humán granulocitákon, monocitákon és limfocitákon vizsgáltuk különböző sejtdenzitás mellett (16. ábra). Mind a granulociták, mind a monociták nagy enzim aktivitást mutattak, míg a limfociták enzim aktivitása csak mérsékelt volt. Felmerült az a technikai kérdés, hogy a mért fluoreszcenciát mennyiben befolyásolja a sejt-szuszpenzió-denzitás. Így egy meghatározott β -naftilamid (BNA) mennyiséghez (5×10^{-9} M) növekedő mennyiségű sejtet adtunk. A növekedő sejt denzitás nem befolyásolta a fluoreszcencia értéket, melyet a BNA bocsájtott ki 480 nm-n (17. ábra). Ezen megfigyeléseink szerint az ABNA-specifikus peptidáz aktivitását élő sejtekben is lehet mérni és feltehetően több enzim is képes az ABNA bontására. Ahhoz, hogy optimálisan határozzuk meg az ABNA specifikus peptidáz aktivitását a granulocitákon, véleményünk szerint $2,5-5,0 \times 10^6$ sejt alkalmazása szükséges.

A továbbiakban összehasonlító vizsgálatokkal is mértük a granulocita At-áz aktivitását élő és roncsolt sejtekben fiatalok és idősek esetében egyaránt (12. tábla).

16. ábra: ABNA specifikus aktivitás humán granulocitákon, monocitákon és limfocitákon különböző sejt denzitások mellett



17. ábra: Relatív fluoreszcencia növekvő granulocita sejt denzitás mellett



12. tábla: A puromicin szenzitív angiotenzináz és metenkefalináz aktivitás
kor szerinti változása granulocitákban

Kísérleti csoportok	ABNA specifikus enzim aktivitás (pmol β NA/perc/ 10^6 sejt)			
	<25 éves		>60 éves	
	élő sejtben	sejtből kiáramló	élő sejtben	sejtből kiáramló
Vak	584	214	1480	572
Angiotenzin II 10^{-5} M	304	228	647	601
Met-enkefalin 10^{-5} M	328	234	605	596
Puromicin 10^{-5} M	294	209	611	586
Puromicin + 10^{-5} M	285	217	605	617
Angiotenzin 10^{-5} M				
STI 100 mU/ml	602	187	1315	418
EACA 200 μ g/ml	275	15	587	18
EACA + 200 mU/ml	21	17	36	24
Puromicin 10^{-5} M				

Az idősök élő granulocitáinak ABNA-specifikus peptidáz aktivitása majdnem kétszeres a fiatalokéhoz viszonyítva. Meg kell jegyeznünk, hogy a korral nemcsak az AtII-vel gátlható aktivitás nőtt, hanem a roncsolt sejtek aktivitása is nagyobb volt. Az élő sejtekben az ABNA bontásának gátlása egyforma volt az AtII-vel és Met-enk-nal 10^{-6} M koncentrációban és puromicinnel (10^{-5} M), de az észlelt hatások nem additívak. Ezen hormonok nem változtatták meg a roncsolt sejtek ABNA bontását. A szójabab tripszin inhibitor (STI) nem gátolta az ABNA bontását sem élő, sem roncsolt sejtben. Ezzel szemben az epsilon-amino-capron-sav (EACA) 200 μ g/ml koncentrációban hatásosan gátolta élő és roncsolt sejtekben az ABNA bontását, olyannyira, hogy az ABNA bontása a roncsolt granulocitákban majdnem teljesen megszűnt, míg élő sejtekben a 96,7 %-os aktivitás gátlás csak a puromicinnel való kombinációban volt elérhető.

Összességében megállapíthatjuk, hogy az angiotenzináz aktivitását meg lehet mérni az ABNA bontásának gátlásával élő granulocitákban mind AtII, mind puromicin jelenlétében. Az At-áz aktivitás nő a korral, ami az idősöknél az AtII keringésből történő gyorsabb eliminációját jelenti.

Eredményeink szerint amellet, hogy a korral csökken a PRA, fennáll az AtII receptorok spontán funkcionális down-regulációja, amely a post-receptoriális-kapcsolás megváltozása útján valósul meg és nő az At-áz aktivitás is.

5.7. A fagocitarendszer effektor funkciói

A receptorok minden esetben alapvető funkciót látnak el a szervezetben az információk közvetítésében, effektor funkciók véghezvitelében minden szinten.

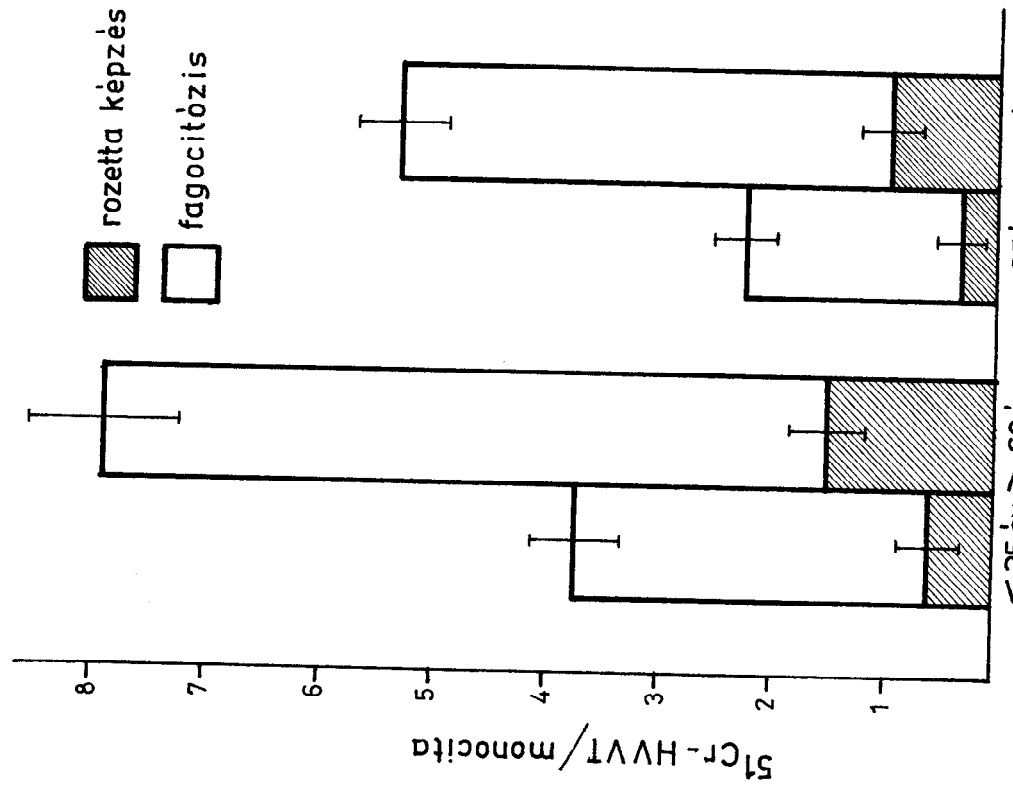
A limfociták funkciót már sokan tanulmányozták és alapvető változásokat írtak le, de a fagocitarendszer időse kori funkcióival alig foglalkoztak. Így jutottunk el a monociták és granulociták effektor funkcióinak tanulmányozásához.

5.7.1. A monociták effektor funkciói

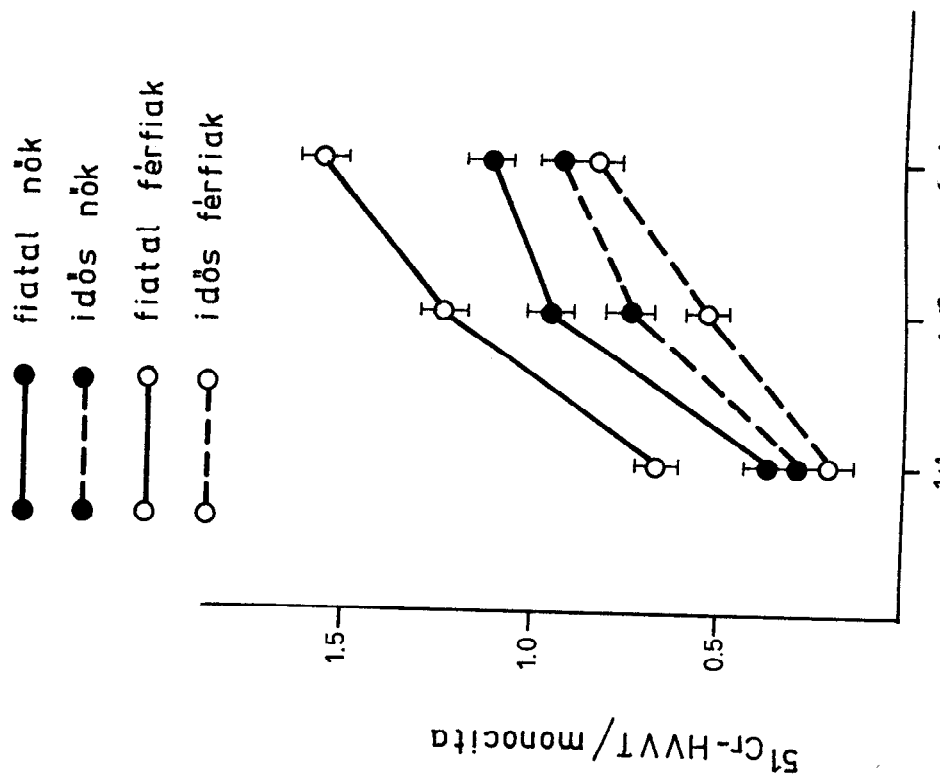
A vizsgált személyek monocitáinak EA rozetta képzését és az $Fc\gamma$ receptor ($Fc\gamma R$) által közvetített fagocitózist a 18. ábrán tüntettük fel. Időse korban mindkét esetben szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,05$) nemcsak a rozetta képzés, hanem a fagocitózis is.

A különböző effektor/target sejt arányok mellett elvégzett ADCC vizsgálat eredményei szerint (19. ábra), az időse csoportokban - az összes alkalmazott effektor/target arányok esetén - alacsonyabb volt az ADCC aktivitás, mint a fiatalokban. A kor szerinti eltérés azonban csak a férfiak esetében volt szignifikáns ($p < 0,001$). Az 1:4 effektor/target sejt arány esetében mért citotoxicitás a rendszerbe vitt további humán vvs-k mennyiségével már nem volt fokozható. A fiatal és időse korcsoportok között a legmarkánsabb kü-

18. ábra: Az $Fc\gamma$ receptor által közvetített rozetta képzés és fagocitózis monocitákon kor és nem szerint



19. ábra: Az $Fc\gamma$ receptor által közvetített monocita ADCC funkció alakulása az effektor/target arányok, valamint kor és nem szerint



lönbséget éppen ezen a ponton találtuk (Fülöp és mtsai 1985).

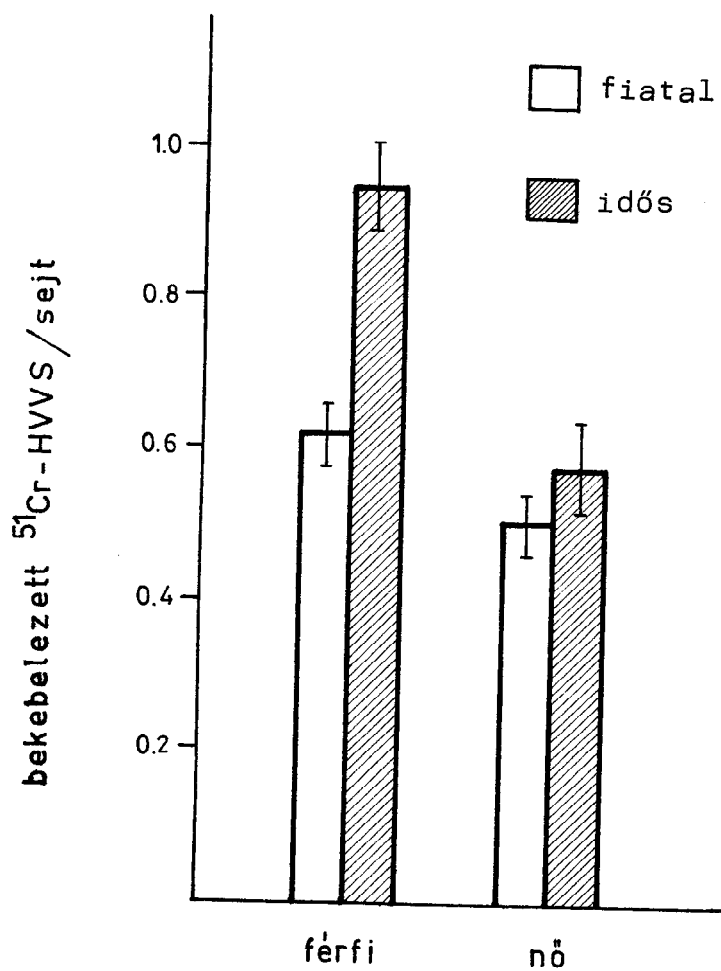
5.7.2. A granulociták effektor funkciói

Az Fc γ R által közvetített granulocita fagocitózis mindkét nem esetében idős korban volt magasabb (20. ábra), de a különbség csak a férfiak esetében volt szignifikáns ($p < 0,01$).

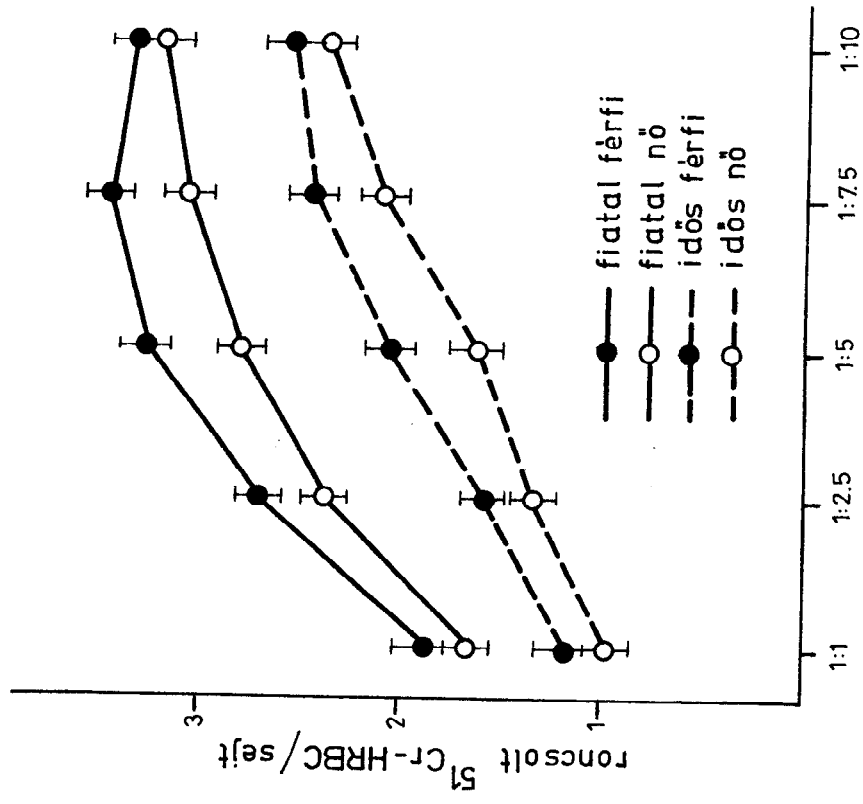
Az ADCC aktivitás akárcsak a monociták esetében, itt is csökken idős korban (21. ábra), de amíg a monociták vonatkozásában csak a férfiak esetében volt szignifikáns a csökkenés, addig itt mindkét nemben szignifikáns eltérést találtunk ($p < 0,01$). Így megállapíthatjuk, hogy az Fc γ R működése is romlik idős korra.

Az opszonizáció révén történő (Fc γ R és C3b) fagocitózis *Saccharomyces cerevisiae* és *Candida albicans* esetében nem mutatott lényeges különbséget az idős és fiatal férfiak között (13. tábla). A változatlan bekebelezés ellenére az intracelluláris killing aktivitás mindkét nemben alacsonyabb volt idős korban (22. ábra), de az eltérés csak férfiak esetében volt szignifikáns ($p < 0,05$) (Fülöp és mtsai 1985). A továbbiakban intracellulárisan vizsgáltuk, hogy mi lehet az effektor funkciók idős kori csökkenésének az oka. Mivel ezek a funkciók mind receptoron keresztül valósulnak meg és számos biokémiai kaszkád mechaniz-

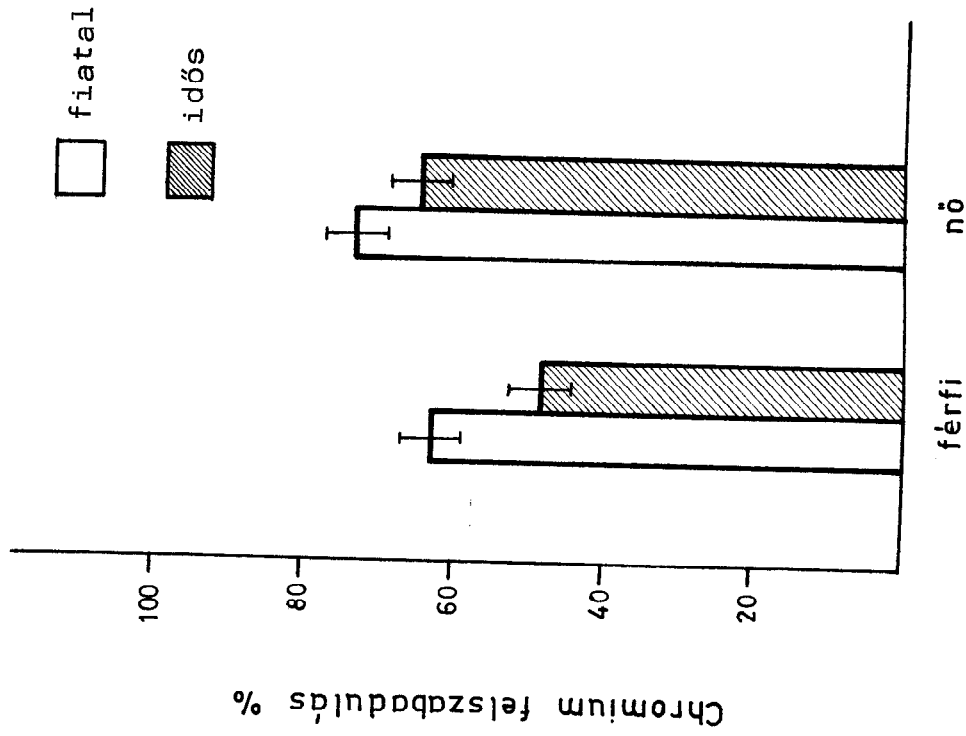
20. ábra: Az $Fc\gamma$ receptor által közvetített
granulocita fagocitózis alakulása
kor és nem szerint



21. ábra: Fc γ receptor által közvetített granulocita ADCC aktivítás alakulása az effektor/target arányok, valamint kor és nem szerint



22. ábra: Az intracelluláris killing alakulása kor és nem szerint granulocitákon



mus beindítását idézik elő, így bizonyos biokémiai kaszkád mechanizmusokat kíséreltünk meg feltérképezni.

13. tábla: Opszonizált élesztősejtek fagocitózisa granulociták által

Mikroorganizmusok	Bekebelezett partikulák száma/granulocita ($\bar{x} \pm S.D.$)	
	fiatal	idős
Saccharomyces cerevisiae	4,82 \pm 0,16	4,56 \pm 0,18
Candida albicans	3,25 \pm 0,11	3,42 \pm 0,13

5.8. Oxidatív metabolizmus

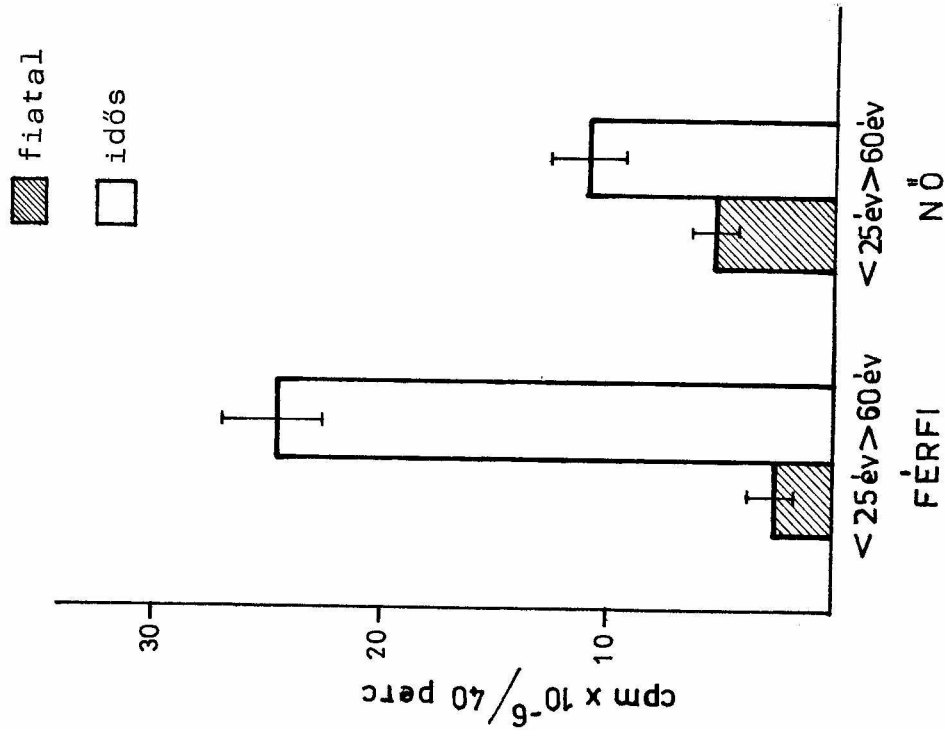
A vizsgált effektor funkciók kivitelezéséhez alapvetően szükség van a "respiratory burst"-re, vagyis a szabadgyökök képzésére. A granulociták oxidatív metabolizmusát nyugvó és stimulált sejteken egyaránt vizsgáltuk.

5.8.1. Nyugvó granulociták oxidatív metabolizmusa

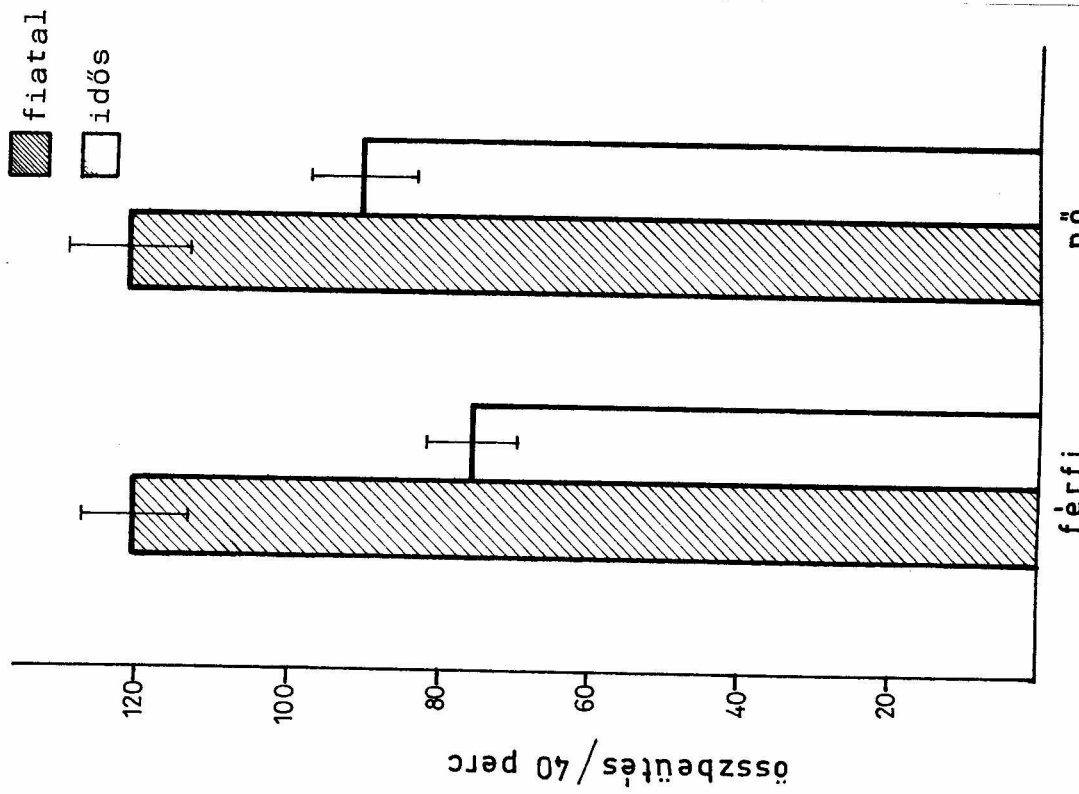
A szabadgyök képzés teszteléséhez alkalmazott kemilumineszcencia nyugalomban erősen fokozódott az idős granulocitáiban (23. ábra) (Fülöp és mtsai 1985).

A nyugvó granulociták O_2 fogyasztásának és H_2O_2 terme-

23. ábra: Fiatalok és idősök nyugvó granulocitáin mért kemilumineszcencia



24. ábra: Fiatalok és idősök stimulált granulocitáin mért kemilumineszcencia



lésének (14. tábla) korral történő szignifikáns növekedését észleltük ($p < 0,01$). Vizsgáltuk a detoxifikációs mechanizmus egyik fő komponensét, a glutation ciklust is. A H_2O_2 detoxifikálását végző glutation peroxidáz (GSHPx) aktivitása szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,01$) idős korban, míg a redukált glutation (GSH) restitúcióját katalizáló glutation reduktáz (GR) aktivitás csökkent ($p < 0,05$). Ez teljesen összhangban van azokkal az eredményekkel, amelyeket ezen enzimek intracelluláris szubsztrátjainak alapszintjére kaptunk (15. tábla: 0 perc). Az oxidált glutation (GS-SG) szint az idős emberek nyugvó sejtjeiben magasabb, míg a GSH szint alacsonyabb volt, mint a fiatalok granulocitáiban. Így a fiatalok sejtjeire oly jellemzően alacsony GS-SG/GSH hányados (14. tábla) a korral jelentősen nőtt ($p < 0,01$).

A nyugvó sejtekben kapott eredményeink szerint tehát a szabadgyök képzése fokozódik idős korra, míg a glutation detoxifikáló ciklus hatékonysága csökken.

5.8.2. Stimulált granulociták oxidatív metabolizmusa

Stimulált granulociták esetében a kemilumineszcencia teszt eredménye éppen az ellenkezője volt annak, amit a nyugvó granulociták vonatkozásában kaptunk (24. ábra). A kemilumineszcencia szignifikánsan alacsonyabb idős korban ($p < 0,01$). Hasonló jelenséget észleltünk az O_2^-

14. tábla: Az oxidatív metabolizmus alakulása fiatal és idős férfiak nyugvó granulocitáiban

Paraméterek	fiatal $\bar{x} \pm S.D.$	idős
O ₂ fogyasztás (nmol/min/10 ⁷ sejt)	6,34±0,52	11,80±0,86
Luminol függő kemilumineszcencia (teljes szám/40 min)	4,2x10 ⁶ ± 1,6x10 ⁵	11,8x10 ⁶ ± 1,1x10 ⁵
Termelt H ₂ O ₂ (nmol/60min/10 ⁶ sejt)	1,08±0,02	1,42±0,03
Glutation peroxidáz (U/10 ⁶ sejt)	0,683±0,02	1,108±0,04
Glutation redukáz (U/10 ⁶ sejt)	13,30±0,72	10,74±0,65
GS-SG/GSH	0,080	0,348

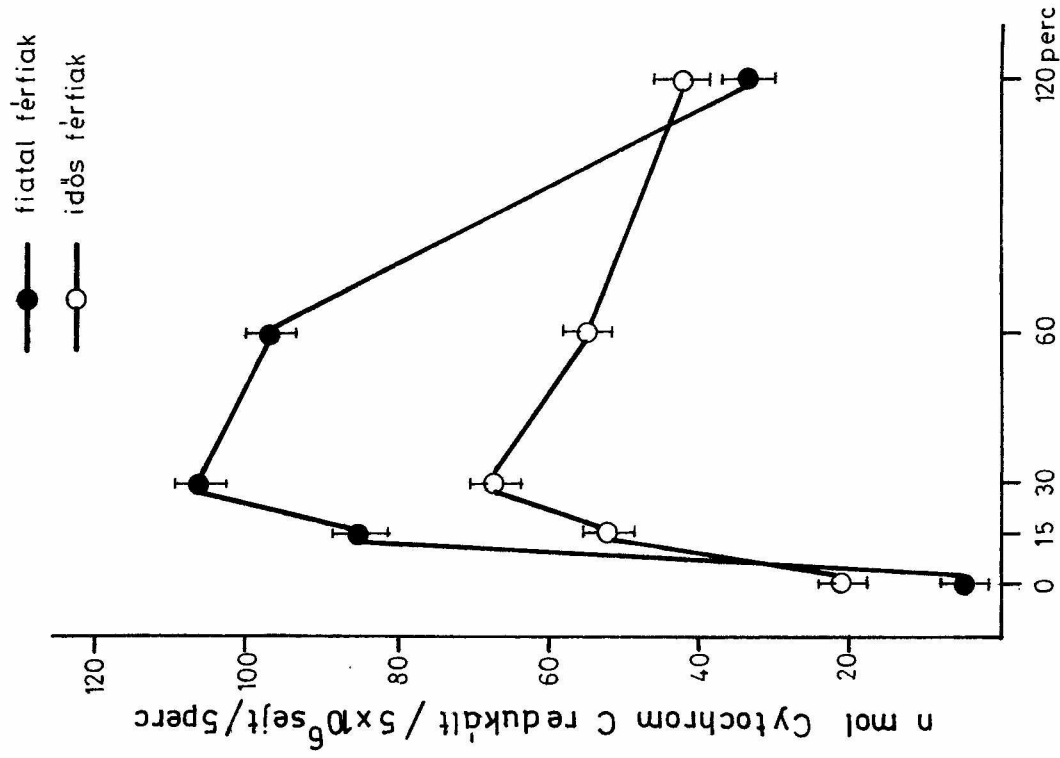
(25. ábra) és a H_2O_2 képzés (26. ábra) vonatkozásában is.

Megállapíthatjuk tehát, hogy stimuláció (élesztő sejt fagocitózis) hatására az idős korúak granulocitáinak szabadgyök képzése jelentősen elmarad a fiatalok granulocitáihoz képest, holott a hatékony mikroba- és tumor eliminálás érdekében éppen idős korban lenne szükség fokozottabb szabadgyök képzésre.

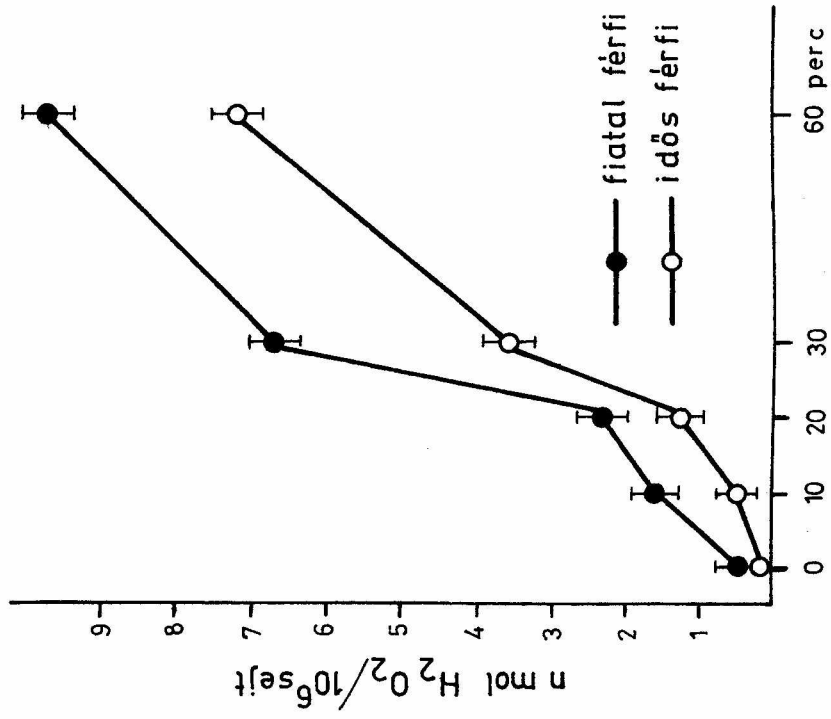
Stimuláció hatására a GSHPx aktivitás (27. ábra) a fiatalok granulocitáiban az első 30 percben hirtelen megemelkedett, majd folyamatosan csökkent. Az idősek granulocitáiban éppen ellenkező irányú változást észleltünk. A GSHPx aktivitás az eleve magasabb kezdeti szintről progresszive csökkent az első 30 percben. A GR aktivitás (28. ábra) a fiatalok esetében progresszive nő a teljes inkubációs idő alatt, míg az idősek granulocitáiban az emelkedő szakasz csak az első 30 percre korlátozódik és attól kezdve az aktivitás szintje gyakorlatilag stagnál. A stimuláció hatására bekövetkezett GSHPx és GR aktivitás változások nem voltak hatással a redukált és oxidált glutation alakulására (15. tábla), így stimuláció hatására a GS-SG/GSH arány sem tért el lényegesen a nyugalmi állapotban észlelttől.

Fiatal sejtekben tehát fagocitózis alatt az O_2^- és H_2O_2 fokozott termelése együtt jár a GSHPx és GR aktivitásának növekedésével. Idősek esetében pedig a relative alacsony

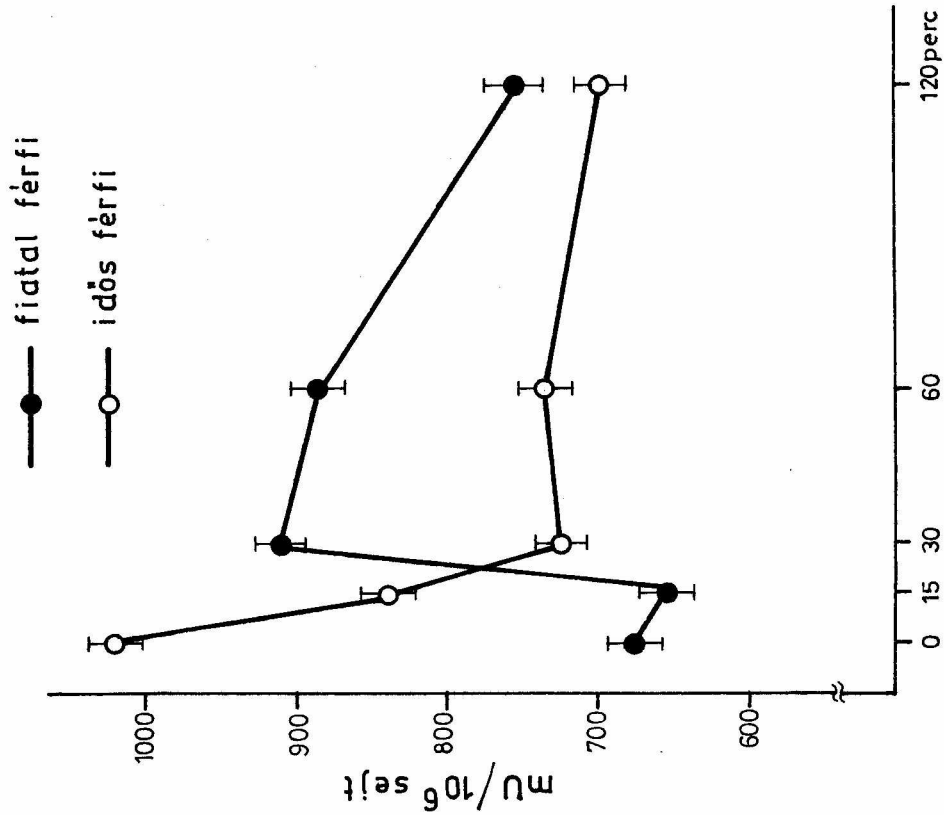
25. ábra: Az O_2^- termelés alakulása granulocitákban fagocitózis hatására fiatalokon és idősekön



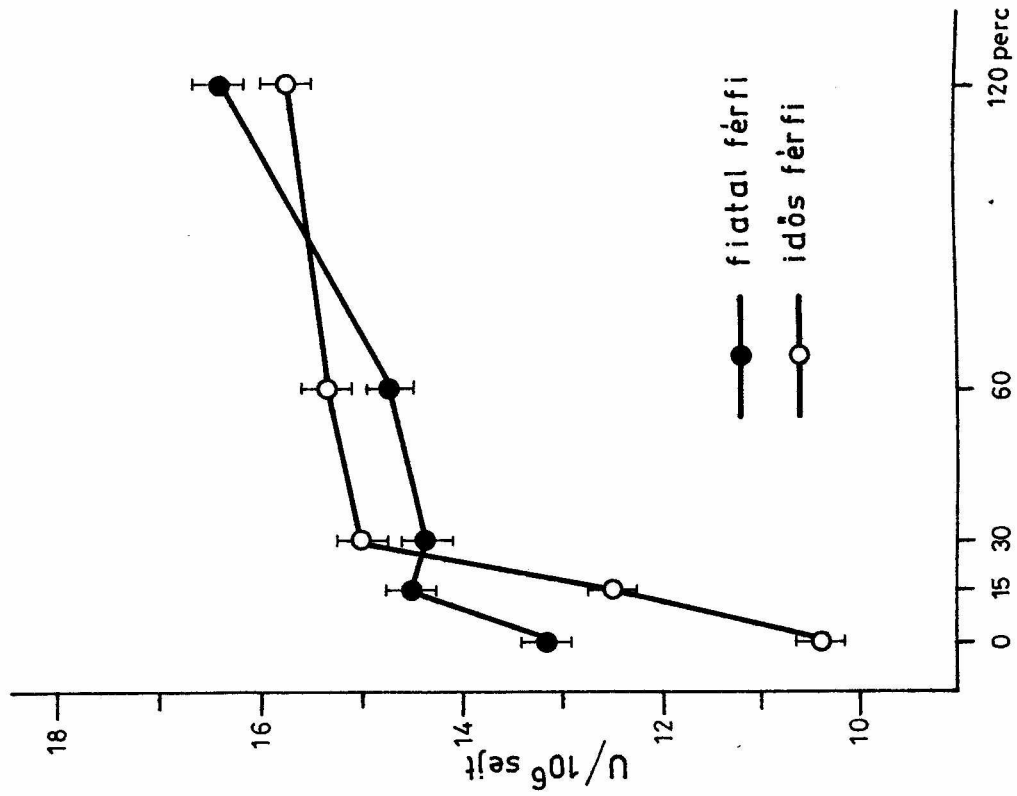
26. ábra: A H_2O_2 termelés alakulása granulocitákban fagocitózis hatására fiatalokon és idősekön



27. ábra: A GSHPx aktivitás alakulása fiatalok és idősek stimulált granulocitáiban



28. ábra: GR aktivitásának változása fiatalok és idősek granulocitáiban



15. tábla: A redukált és oxidált glutation változásai fagocitózis alatt fiatal és idős férfiak granulocitáiban

Inkubációs idő perc	Fiatalok		Idősek	
	GSH ug/10 ⁷ sejt	GS-SG ug/10 ⁷ sejt	GSH ug/10 ⁷ sejt	GS-SG ug/10 ⁷ sejt
	$\bar{x} \pm SD$			
0	3,85±0,21	0,31±0,05	2,24±0,14	0,78±0,04
15	2,05±0,14	1,15±0,08	2,02±0,18	0,52±0,02
30	1,74±0,15	0,63±0,02	1,95±0,05	0,58±0,02
60	1,58±0,09	0,45±0,02	1,87±0,08	0,81±0,03
120	1,62±0,11	0,28±0,04	1,98±0,04	0,71±0,03

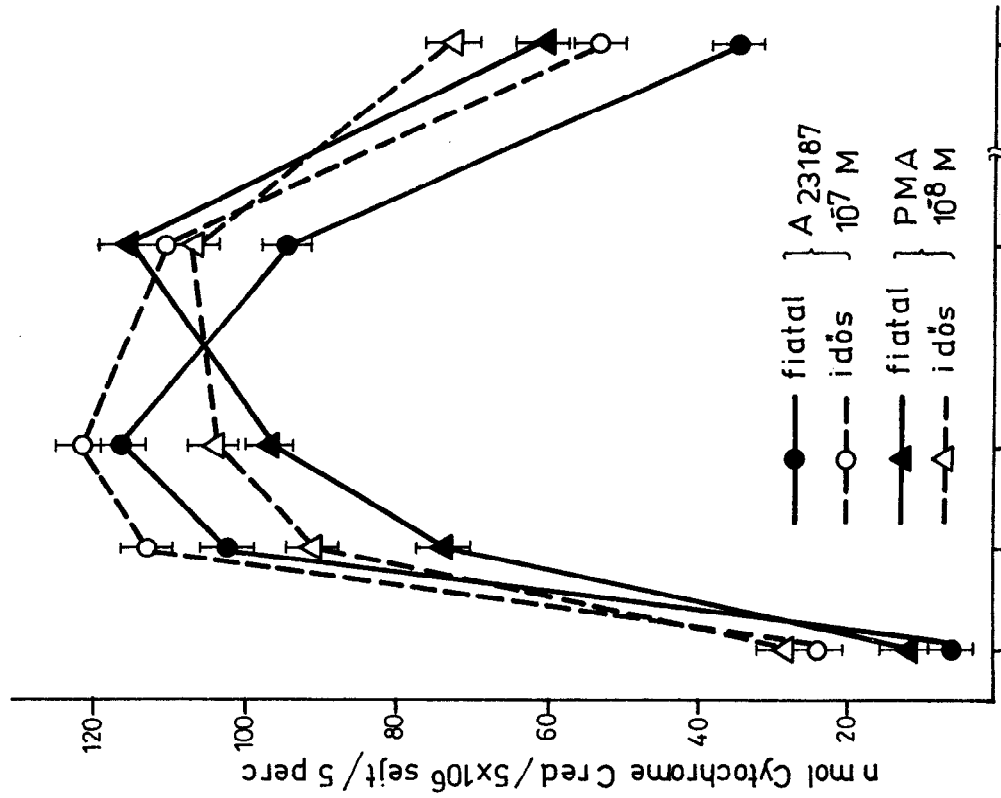
O_2^- és H_2O_2 termelés az eredetileg magas GSHPx aktivitás csökkenésével együtt azt eredményezi, hogy nyugvó állapotban is magas GS-SG/GSH arány nem változik tovább fagocitózis alatt.

Ezek után felmerül itt is a receptor defektus lehetősége, ezért megmértük ugyanezeket a paramétereket nemcsak fagocitózis stimulus, de Ca ionofor és PMA stimuláció alatt is. Az utóbbi két anyaggal történő stimuláció során kapott eredmények (29 - 31. ábrák) eltérnek azoktól, amelyeket a fagocitózis esetében kaptunk, nevezetesen sem a Ca ionofor, sem pedig a PMA stimuláció nem differenciálta - bár mindkettő fokozta - a fiatalok és idősök granulocitáinak oxidatív metabolizmusát, míg a glutation ciklus enzimeinek aktivitását nem befolyásolták. Ez arra engedett következtetni, hogy a respiratory burst idős kori csökkenése receptor függő és további ösztönzést adott vizsgálataink folytatásához.

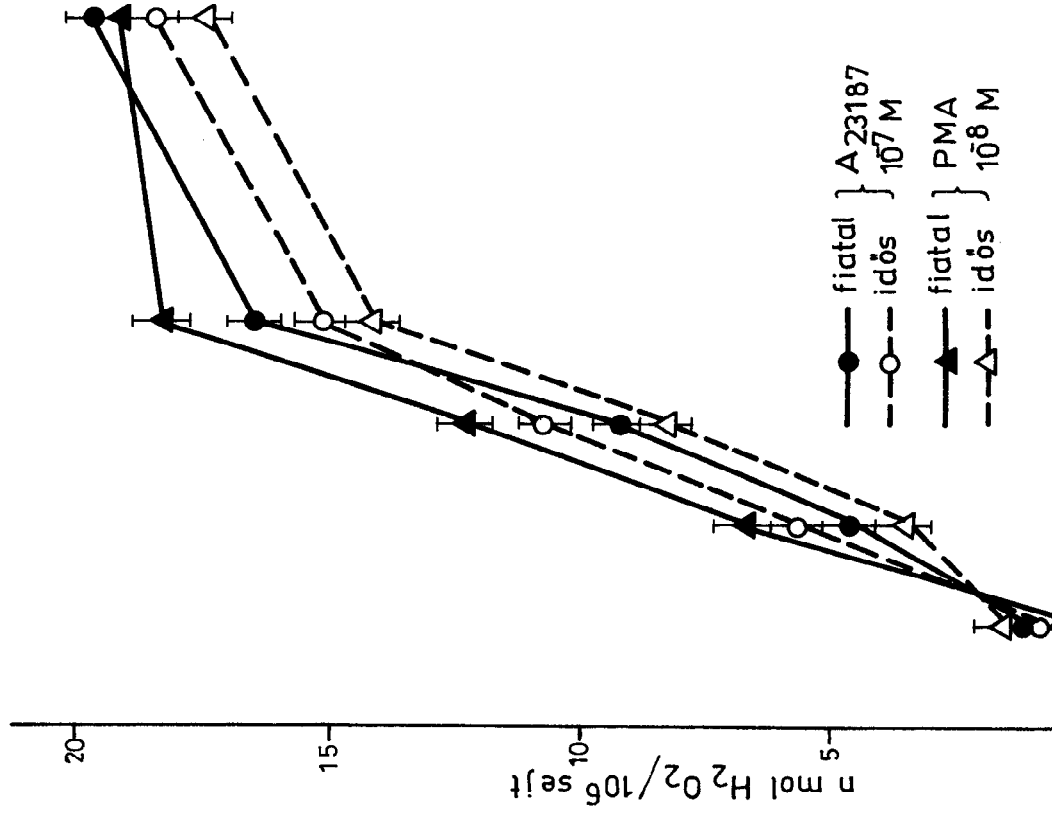
5.9. A granulociták intralizoszómális enzim aktivitása

A sejtek effektor funkcióihoz nemcsak szabadgyökökre van szükség, hanem bizonyos kulcsfontosságú enzimekre is, mint pl. lizozim, kollagenáz, elasztáz, stb. Ezért mi is megvizsgáltuk, hogy mi történik két intralizoszómális enzim aktivitásával fiatalok és idősök granulocitáiban, illetve van-e különbség ezen enzimek kiáramlásában különböző

29. ábra: Az O_2^- termelés alakulása granulocitákban A_{23187} és PMA hatására fiatalokon és idősökön



30. ábra: A H_2O_2 termelés alakulása granulocitákban A_{23187} és PMA hatására fiatalok és idősökön



stimulációk hatására. Az egyik enzim a β glükuronidáz, mely aspecifikus enzimként résztvesz a gyulladásos folyamatokban, másik az elasztáz volt, mely az elasztin rostok bontásáért felel.

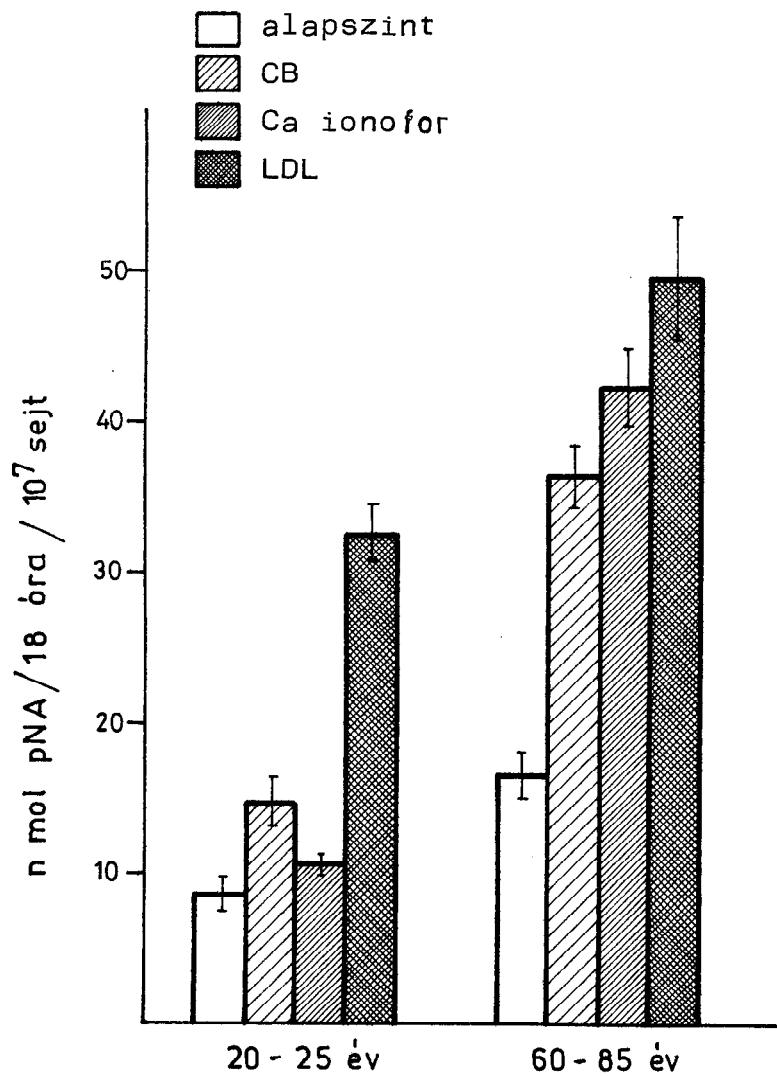
5.9.1. A granulociták β glükuronidáz aktivitása

A β glükuronidáz kiáramlás alapszintjében nem találtunk szignifikáns különbséget a fiatalok és idősök között (32. ábra). A citokalazin B-vel (CB) - mint ismert mikrofilamentum roncsoló anyaggal - történő kezelés nem emelte szignifikánsan a β glükuronidáz kiáramlást sem fiataloknál, sem az időséknél. Ezzel ellentétben a Ca ionofor - mely ismert nem specifikus aktiválója a fagocita sejteknek - nagymérvű kiáramlást okozott mindkét vizsgált csoportban. A kiáramlás növekedése nagyobb volt ugyan a fiataloknál, mint az időséknél, de az eltérés nem volt szignifikáns ($p < 0,05$). Az LDL is erős kiáramlás növekedést eredményezett, kor szerinti eltérést azonban nem észleltünk.

5.9.2. A granulociták elasztáz aktivitása

Az elasztáz esetében a spontán kiáramlás az idősökben volt nagyobb (33. ábra), de a különbség nem volt szignifikáns. A fiataloknál a CB és Ca ionofor nem eredményezett megnövekedett kiáramlást, míg az LDL hatására ez

33. ábra: Elasztáz felszabadulás különböző
stimulusok hatására idősök és
fiatalok granulocitáiból



szignifikánsan nőtt. Időseknél a CB, Ca ionofor és LDL is nagyfokú, szignifikáns kiáramlást váltott ki az alapszint-hez képest ($p < 0,01$). Eredményeink arra utalnak, hogy a CB roncsoló hatása időskorban nem egyformán érvényesül a különböző enzimek vonatkozásában. Ezzel szemben az LDL nemcsak az elasztáz kiáramlást fokozta, hanem a β glükuronidáz is, bár ez utóbbit kortól függetlenül. Feltételezhető tehát, hogy a granulocita felszínén levő receptorok differenciáltan indítják be a különböző enzimek kiáramlását szabályozó mechanizmusokat.

5.10. A receptorok működésének vizsgálata

A monocita és granulocita $Fc\gamma R$ által közvetített effektor funkciók korral járó nagymérvű csökkenése maga után vonja a kérdést, hogy az elváltozások a receptorok számának és/vagy affinitásának csökkenésében keresendők-e, vagy változatlan receptor szám és affinitás mellett is csökkennek az effektor funkciók. Az elvégzett funkcionális vizsgálatok eredményei indirekte arra utalnak, hogy az $Fc\gamma R$ szám és affinitás nem változik a korral (Fülöp és mtsai 1985): a fagocitózis ugyanolyan mértékű fiatalloknál, mint időseknél mind a tiszta $Fc\gamma R$ stimulálásnál (HVVS), mind az előre opszonizált *Candida albicans* esetében (C3b és $Fc\gamma R$). Úgy tűnik tehát, hogy a választ a receptor kapcsolás mechanizmusának megváltozásában kell keresni.

5.10.1. Ca²⁺ transzport

A kapcsolási mechanizmus egyik rendkívül fontos résztvevője a Ca²⁺, melynek intracelluláris koncentrációja alapvető szerepet játszik a granulociták aktivitásának szabályozásában. Különösen a plazma membránon keresztül történő Ca²⁺ mozgásnak van nagy fiziológiai jelentősége, mivel a membrán receptor aktiválás voltaképpen egy kaskád mechanizmust indít be. Ennek elengedhetetlen része a citoszolban található Ca²⁺ koncentráció megváltozása, a Ca²⁺ membránon keresztül történő mozgása révén és az intracelluláris tárolóhelyekről felszabaduló Ca²⁺ által. A Ca²⁺ által indukált változásokért elsősorban az intracellulárisan elhelyezkedő kalmodulin a felelős. Így nagyon fontossá vált, hogy megértsük, hogyan tudják az idős sejtek kontrollálni az intracelluláris Ca²⁺ koncentrációt.

A Ca²⁺ beáramlás és kiáramlás méréséhez monocitákat használtunk és azokat FMLP-vel stimuláltuk. Az FMLP-nek specifikus receptor kötőhelyei vannak a membránban és a granulocitákat nagy valószínűséggel a Ca²⁺ metabolizmus megváltozásának útján képes aktiválni.

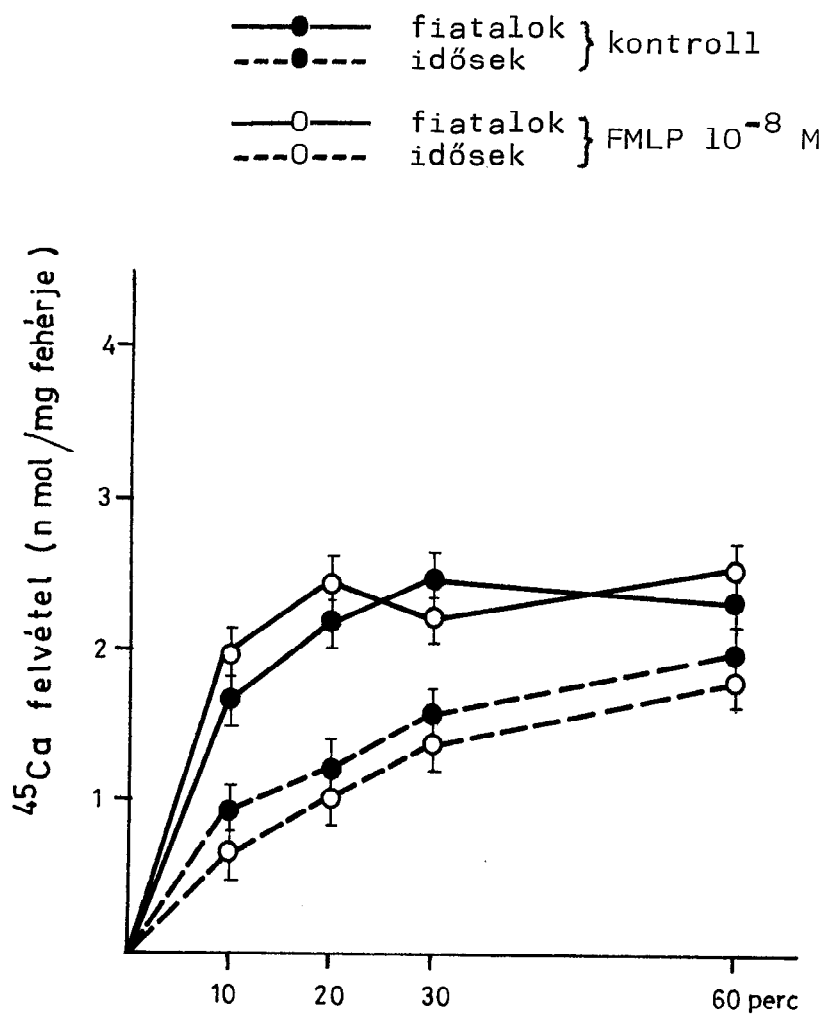
Megnéztük, hogyan alakul a Ca²⁺ felvétel idős és fiatalok monocitáiban. Az idős sejtek spontán Ca²⁺ felvétele csökkentebb volt a fiatalokénál. FMLP hatására (10⁻⁸ M) a ⁴⁵Ca felvétel nem változott sem a fiatalok, sem az idős esetében. Ez megegyezik az irodalomban le-

írtakkal, tehát azzal, hogy a kemotaktikus peptidek, így az FMLP is, nem a Ca^{2+} felvétel fokozásával hatnak, hanem a Ca^{2+} leadás szabályozásával. Kor szerint nem volt szignifikáns változás az FMLP hatására a Ca felvétel tekintetében (34. ábra).

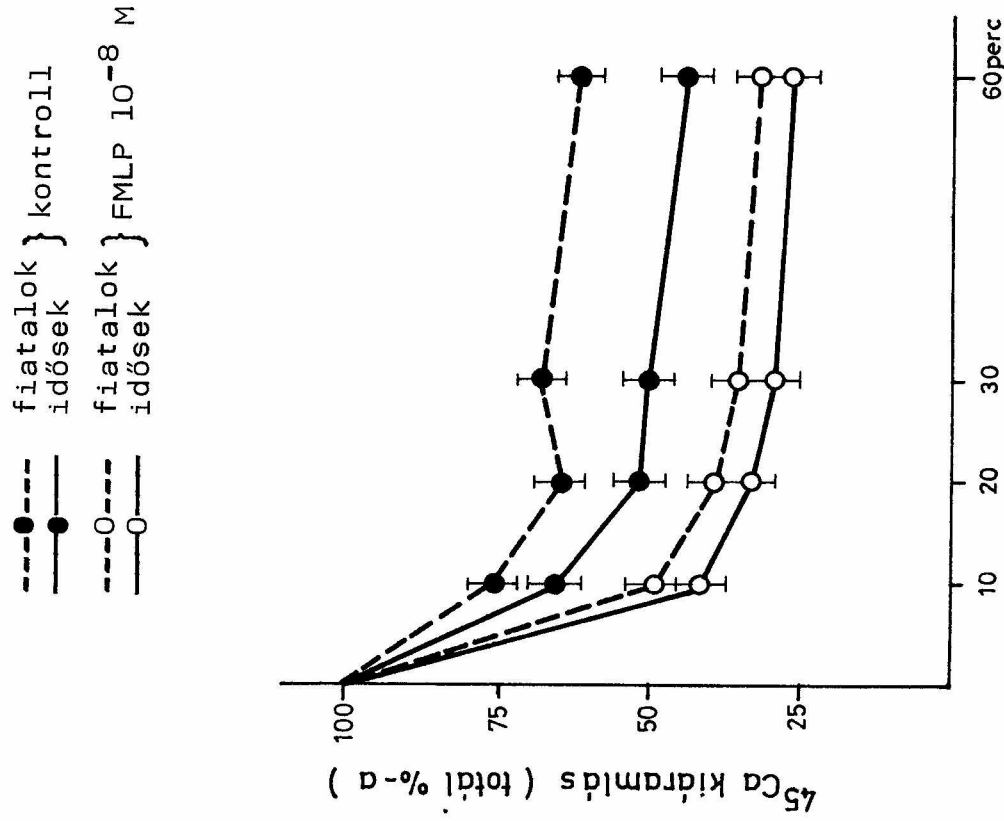
A ^{45}Ca leadásra vonatkozó eredményeinket a 35. ábra tartalmazza. Az idősök monocitáiból a spontán kiáramlás nagyobb volt, mint a fiatalokéból és FMLP hatására nőtt ugyan a ^{45}Ca leadás, de kisebb mértékben, mint a fiataloknál.

Tudjuk, hogy a Ca^{2+} kiáramlása főleg a Ca-ATP-áz pumpán keresztül történik eukarióta sejtekben, de történhet a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ és $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélésén keresztül is. Az is ismert, hogy nagyrészen a kalmodulin szabályozza a membrán Ca-ATP-áz aktivitását. Így a Ca-ATP-áz pumpa funkciójának méréséhez trifluoroperazint (TFP) lehet használni, amely gátolja a kalmodulin aktivitását és így indirekte a Ca-ATP-áz pumpát is. A TFP direkt gátló hatással is rendelkezik a Ca-ATP-áz pumpára. Az idősök sejtjeiből a TFP szenzitív úton történő kiáramlás (36. ábra) eleve kisebb a fiatalokéhoz képest. FMLP hatására a fiatalok sejtjeiből a TFP szenzitív úton történő kiáramlás nő, míg idősök sejtjei esetén csökken. Ugyanakkor a TFP inszenzitív úton történő kiáramlás csak az idősök esetén nő. Azaz a Ca^{2+} leadás nyugvó és stimulált állapotban más módon történik

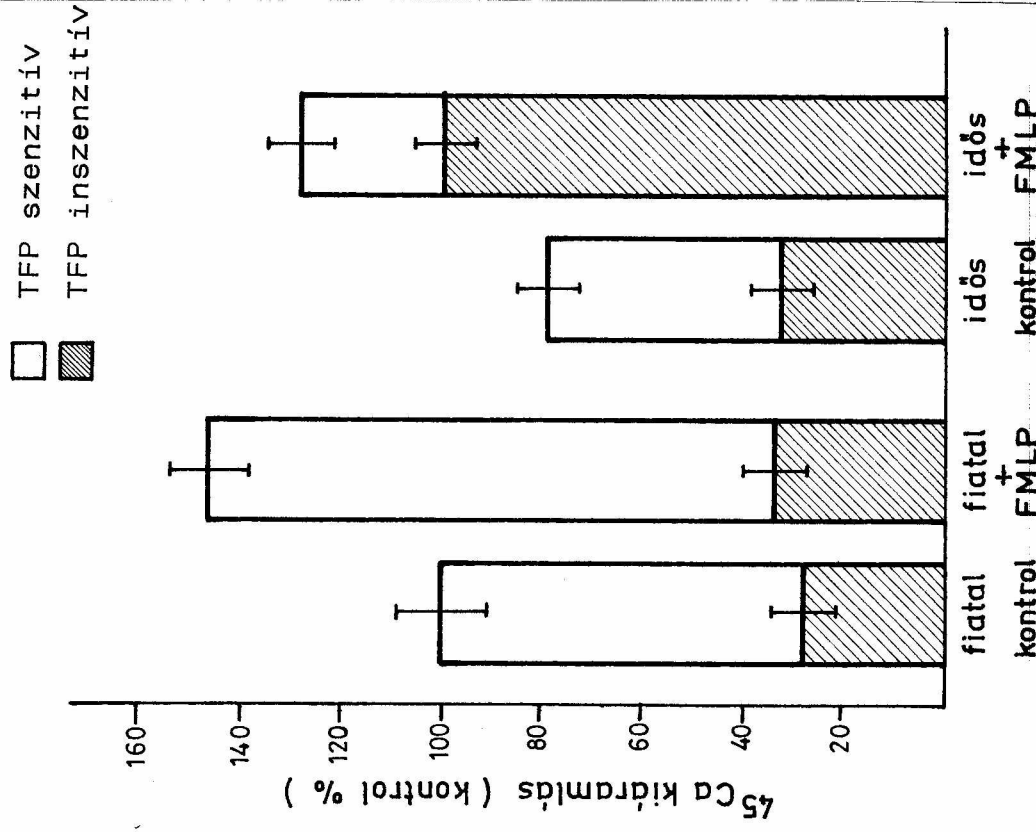
34. ábra: A monociták ^{45}Ca felvétele FMLP stimuláció hatására fiatalok és idősök esetében



35. ábra: ^{45}Ca leadás monocitákon FMLP hatására fiatalok és idősek esetében



36. ábra: A ^{45}Ca kiáramlása FMLP hatására a TFP szenzitív és inszenzitív utakon fiatalok és idősek monocitáiból



idősek, mint fiatalok esetében.

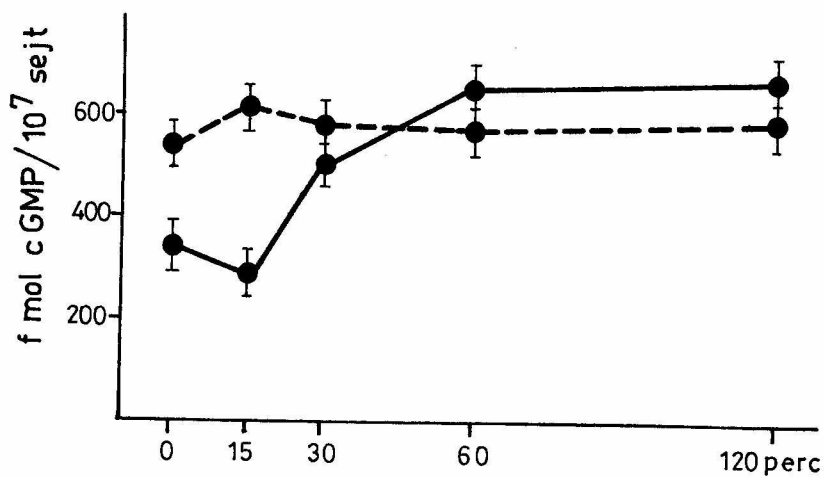
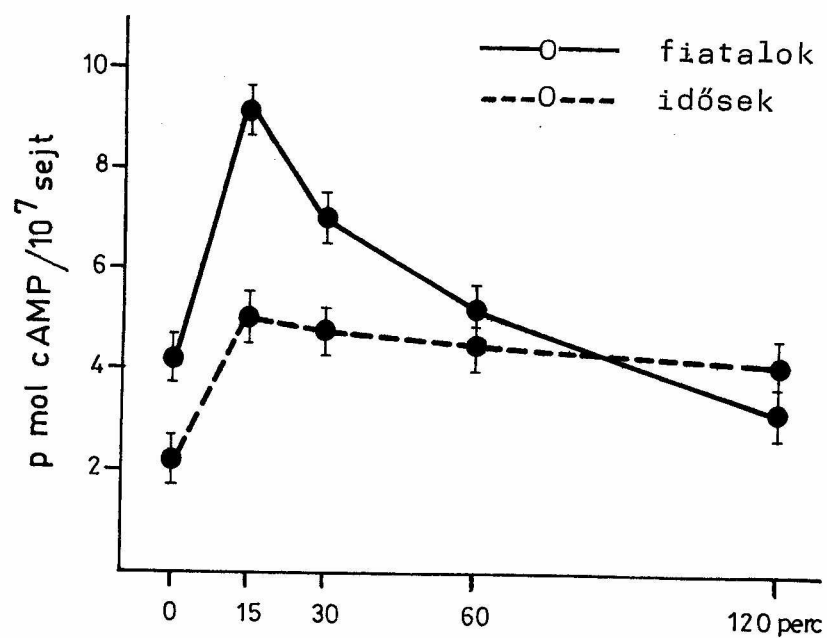
Kísérleteink eredményeit összefoglalva megállapíthatjuk, hogy a sejtnak az FMLP specifikus (receptor) aktivítása a Ca^{2+} transzport szabályozásán keresztül megváltozik idős korban és olyan mechanizmusok kerülnek előtérbe, melyek feltehetően nem tudnak kellően hatásosak lenni a sejt aktiválásában.

5.10.2. Ciklikus nukleotidák

A kapcsolási mechanizmus másik legfontosabb résztvevőjének a ciklikus nukleotidáknak az alakulását nyugvó és fagocitózissal stimulált granulocitákban vizegáltuk. A csupán RPMI 1640 mediummal történő inkubáció esetén (120 perc) nincs különbség a cAMP és cGMP szintek között (16. tábla). Így tehát a ciklikus nukleotidák változását csak a fagocitózis idézhette elő.

Fiataloknál a cAMP szint az első 15 percben elérte a maximumot, majd a 60. perctől kezdve fokozatosan visszatért a kiinduló értékre (37. ábra), a cGMP ugyanakkor a 30. perctől kezdődően a fagocitózis alatt végig emelkedett. Az idős granulocitáiban a cAMP szint már kezdetben alacsonyabb volt, mint a fiatalokéban és bár az emelkedés itt is a 15. percben tetőzött, ez a szint a fagocitózis alatt végig fennállt. A cGMP szint az idős sejtekben eleve magasabb volt a fiatalokénál és nem változott a

37. ábra: A cAMP és cGMP szint alakulása fagocitózis alatt fiatalok és idősök granulocitáiban



16. tábla: Idős és fiatal férfiak granulocitáinak cAMP + cGMP szintje
RPMI 1640 mediumban történő 120 perces inkubáció alatt

Inkubációs idő perc	cAMP pmol/10 ⁷ sejt		cGMP fmol/10 ⁷ sejt	
	fiatal	idős $\bar{x} \pm \text{S.D.}$	fiatal	idős
0	4,08 \pm 0,2	2,26 \pm 0,2	312 \pm 25	582 \pm 41
15	4,16 \pm 0,2	2,42 \pm 0,1	335 \pm 28	605 \pm 36
30	3,92 \pm 0,2	2,15 \pm 0,2	354 \pm 34	593 \pm 31
60	3,74 \pm 0,3	2,05 \pm 0,2	348 \pm 30	614 \pm 38
120	3,70 \pm 0,3	2,19 \pm 0,2	361 \pm 21	609 \pm 45

fagocitózis alatt. Úgy tűnik tehát, hogy az idősök granulocitáiban csak a cAMP stimulálható, a cGMP nem.

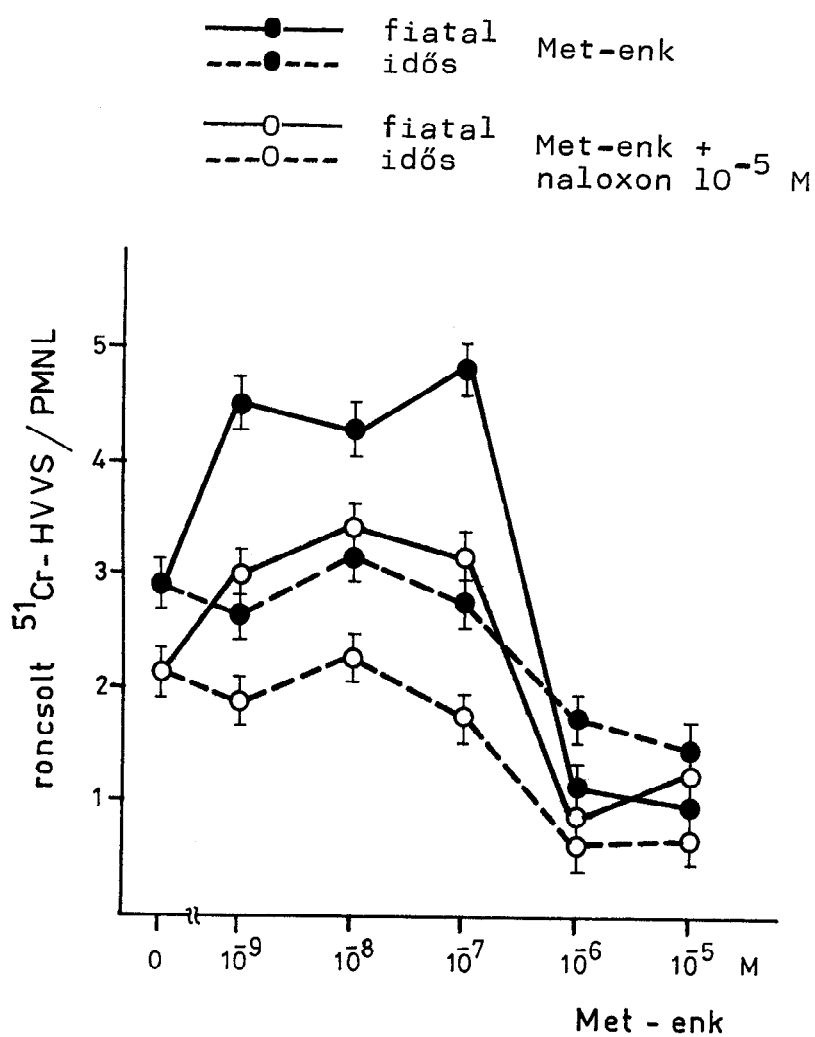
Összefoglalva eredményeinket megállapíthatjuk, hogy a receptor stimulálásakor beindított kaszkád reakció - az adenilát cikláz és a Ca^{2+} transzport vonatkozásában egyaránt - megváltozik a korral és a megváltozott mechanizmus a továbbiakban a sejtek nagyszámu funkciójának a megváltozását is eredményezheti. Az AtII által stimulált granulocita AtII receptor és a fagocitózis által stimulált $\text{Fc}\gamma\text{R}$ működésének megváltozása eklatáns példái a receptor diszregulációnak idős korban, melyek végső soron egy általános receptor funkció/kapcsolás probléma lehetőségére utalnak.

5.10.3. Opioid receptor modell komplex vizsgálata

A továbbiakban a naloxon szenzitív opiat receptorokkal végeztünk kísérleteket granulocitákon.

Kísérleteink első lépéseként különböző koncentrációjú Met-enk hatását vizsgáltuk az $\text{Fc}\gamma\text{R}$ közvetített extracelluláris citotoxicitásra (ADCC). A Met-enk kis koncentrációban mindkét csoportban megnövelte az ADCC aktivitást (38. ábra), de ez a stimuláló effektus sokkal kisebb volt az idősök esetében és naloxonnal teljesen kivédhetőnek bizonyult. Nagy koncentrációban a Met-enk gátolta az ADCC aktivitást, amit viszont a naloxon nem védett ki, továbbá

38. ábra: Különböző koncentrációjú Met-enkefalin hatása az $Fc\gamma$ receptor közvetített ADCC aktivitásra



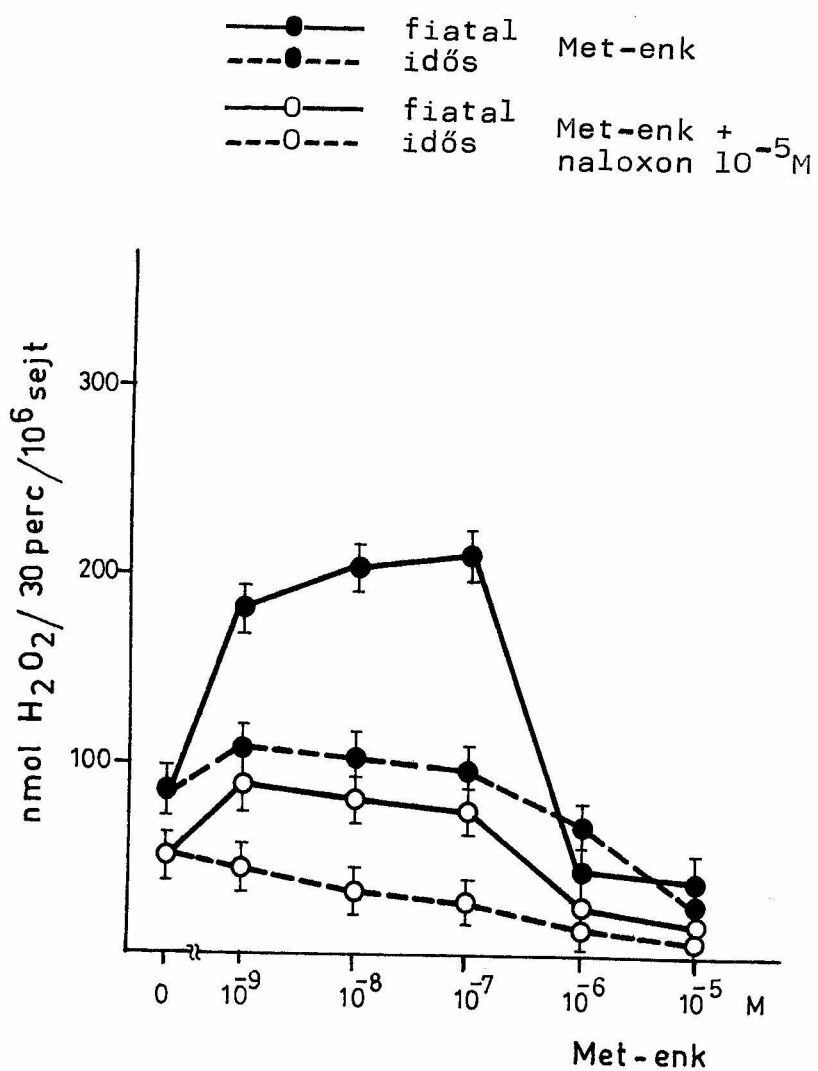
a hormon gátló effektusa időseknél még kifejezettebb volt, mint fiataloknál.

A Met-enk ADCC aktivitásra gyakorolt hatásának jobb megismerése céljából megvizsgáltuk a H_2O_2 termelést is különböző Met-enk koncentrációban (39. ábra). A Met-enk kis koncentrációban - amelyben az ADCC aktivitást stimulálta - növelte a H_2O_2 képzést a fiatalok és idősök granulocitáiban egyaránt, de a növekedés idősök esetében alacsonyabb volt. A naloxon 10^{-5} M koncentrációban megszüntette a sejtek H_2O_2 termelését. Nagy koncentrációban a Met-enk csökkentette a H_2O_2 termelését fiataloknál és időseknél is és ezt a csökkentő hatást a naloxon nem szüntette meg. Mindebből arra következtethetünk, hogy a Met-enk részben modulálhatja az ADCC aktivitást a H_2O_2 növelésével, tehát az oxidációs metabolizmus révén.

Kis koncentrációju Met-enk hatására a fiatalok granulocitáinak cAMP szintje enyhén csökkent (17. tábla), míg a cGMP szint a 30. perctől nagy arányban növekedett. Idős egyének granulocitáiban az eleve magasabb cGMP szint nem változott, míg az eleve alacsonyabb cAMP szint folyamatosan nőtt az inkubáció első 60 percében és azután sem tért vissza az eredeti szintre.

Nagy koncentrációju Met-enk hatására a ciklikus nukleotidák mindkét korcsoportban ugyanazon a módon válaszoltak (18. tábla): a cAMP szint progresszíve megnőtt, de az idősökben nem tért vissza 120 perc után sem az eredeti szint-

39. ábra: Különböző koncentrációjú Met-enkefalin hatása a granulocita H_2O_2 termelésére



17. tábla: Idősek és fiatalok granulocitáinak cAMP - cGMP szint változása 10^{-8} M Met-enk hatására

Inkubációs idő perc	fiatal (18 - 25 éves)		idős (60 - 87 éves)	
	cAMP	cGMP	cAMP	cGMP
	pmol/10 ⁷ sejt	fmol/10 ⁷ sejt	pmol/10 ⁷ sejt	fmol/10 ⁷ sejt
	$\bar{x} \pm SD$			
0	4,52 \pm 0,24	311 \pm 15	2,81 \pm 0,11	534 \pm 21
15	3,62 \pm 0,18	466 \pm 18 ^x	4,64 \pm 0,25 ^x	502 \pm 15
30	3,43 \pm 0,15	712 \pm 36 ^x	5,76 \pm 0,19 ^x	547 \pm 28
60	4,48 \pm 0,22	738 \pm 42 ^x	5,94 \pm 0,24 ^x	568 \pm 34
120	4,25 \pm 0,26	705 \pm 26 ^x	4,08 \pm 0,21 ^x	516 \pm 20

x p<0,01 szinten szignifikáns a "0" perces értékhez képest

18. tábla: Idősek és fiatalok granulocitáinak cAMP - cGMP szint változása 10^{-6} M Met-enk hatására

Inkubációs idő perc	fiatal (18 - 25 éves)		idős (60 - 87 éves)	
	cAMP pmol/ 10^7 sejt	cGMP fmol/ 10^7 sejt	cAMP pmol/ 10^7 sejt	cGMP fmol/ 10^7 sejt
	$\bar{x} \pm SD$			
0	4,71 \pm 0,28	285 \pm 16	2,64 \pm 0,16	498 \pm 28
15	8,55 \pm 0,34 ^x	264 \pm 18	6,03 \pm 0,28 ^x	507 \pm 36
30	8,08 \pm 0,32 ^x	271 \pm 11	9,16 \pm 0,38 ^x	486 \pm 27
60	6,92 \pm 0,21 ^x	287 \pm 14	8,85 \pm 0,34 ^x	516 \pm 29
120	4,96 \pm 0,25	234 \pm 14	8,01 \pm 0,35 ^x	501 \pm 37

^x lásd 17. tábla

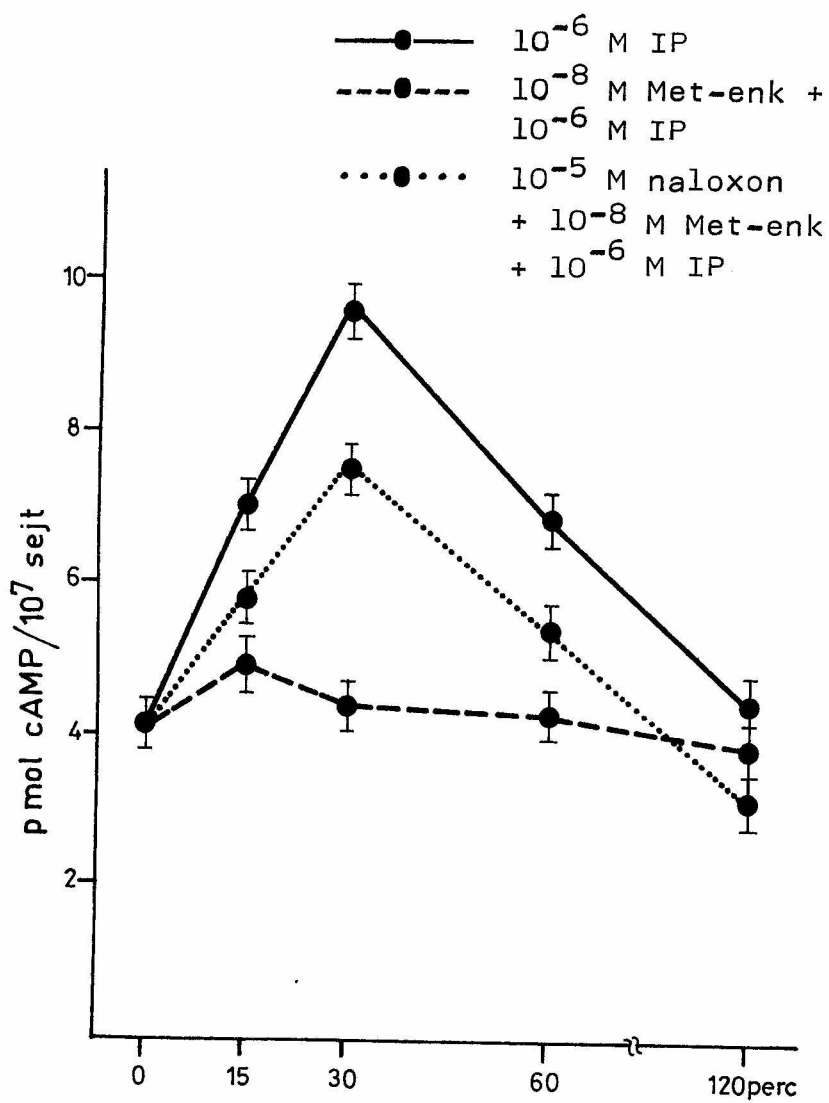
re; a cGMP-t nem érintette a hormon effektusa ebben a koncentrációban.

A fiatalok sejtjeiben, tehát a Met-enk kis koncentrációban gátolta az adenilát cikláz, míg nagy koncentrációban csak azt a receptort képes működésbe hozni, amely pozitívan kötött az adenilát cikláz rendszerhez.

A fiatalok sejtjeire vonatkozó adenilát cikláz gátló effektust egy modell rendszerben vizsgáltuk (40. ábra). Eredményeink szerint a kis koncentrációju Met-enk - mint előkezelés - kivédte az izoproterenol (IP) cAMP emelő hatását, a naloxon hozzáadás viszont a Met-enk gátló hatását védte ki és így valójában az IP cAMP emelő hatása érvényesült. Így a kis koncentrációju Met-enk, az adenilát cikláz rendszerhez negatívan kapcsolódó naloxon szenzitív receptorához kötődve gátolta az IP cAMP emelő hatását. Végül fiataloktól és idősektől nyert granulocitákban tanulmányoztuk az opiát receptorok koncentráció függőségét, azaz a negatív és pozitív kapcsolásukat az adenilát rendszerhez. A cAMP szintet az IP stimuláció 30. percében határoztuk meg.

A kísérlet első részében a granulocitákat előinkubáltuk különböző Met-enk koncentrációkkal mielőtt az IP-t hozzáadtuk volna, így tehát a cAMP szintet határoztuk meg a Met-enk-os inkubáció 90. percében és az IP-os stimuláció 30. percében. A kontrollt csak a 90. percben meghatároztuk

40. ábra: 10^{-8} M Met-enk hatása az IP kiváltotta cAMP szint emelkedésre fiatalok granulocitáiban

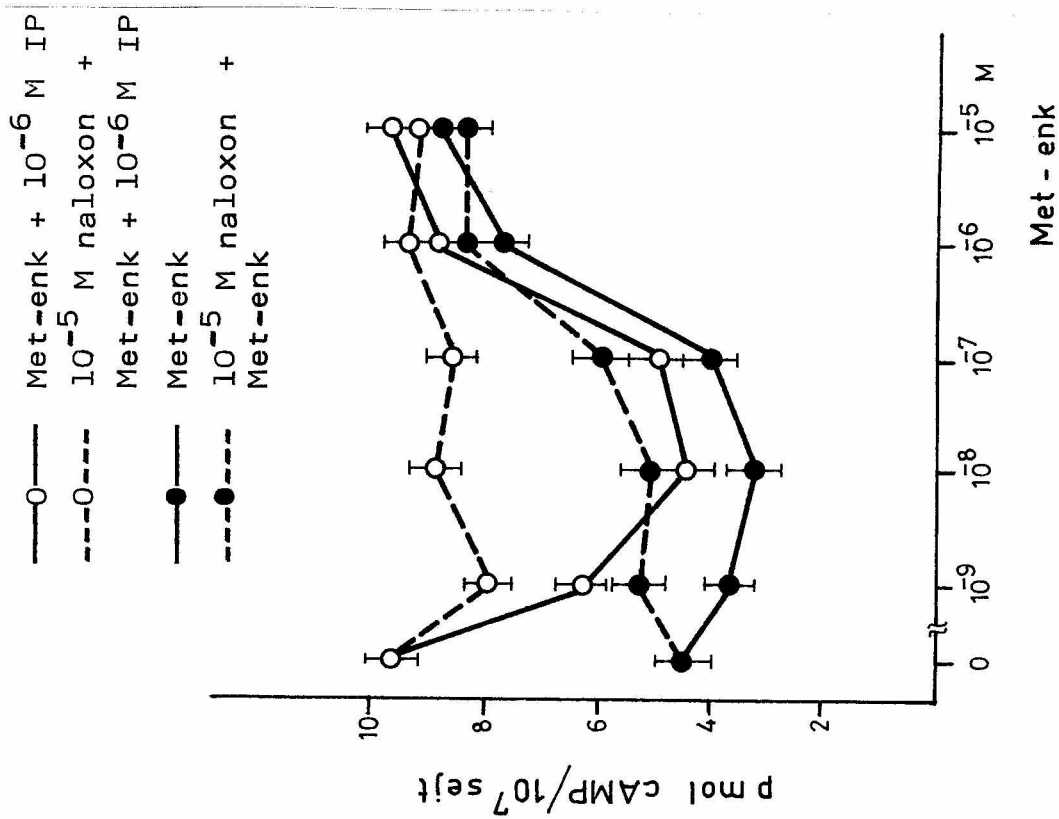


Met-enk stimulálta sejtek jelentették. A kísérletet 10^{-5} M naloxon mellett is elvégeztük. A fiatalok esetében csak a 10^{-6} - 10^{-5} M-os koncentrációju Met-enk (nagy konc.) okozott szignifikáns cAMP emelkedést az inkubáció 90. percében, míg az IP-al kezelt sejtekben a Met-enk gátolta még 10^{-9} - 10^{-7} M koncentrációkban is a cAMP növekedését (41. ábra). A nagy koncentrációju Met-enk okozta cAMP növekedést az IP már tovább nem tudta emelni. Ha naloxont adtunk a sejtekhez 15 perccel a Met-enk kezelés előtt, úgy ez kivédte a 10^{-9} - 10^{-7} M Met-enk koncentráció gátló effektusát az adenilát ciklázra. Az időssek granulocitáiban a Met-enk minden koncentrációban növelte a cAMP szintet és a naloxon nem tudta ezt kivédeni (42. ábra). Az IP az idősseknél is cAMP szint növekedést idézett elő a nem kezelt sejtekben, de ha Met-enk kezelés után adagoltuk itt sem tudott már további emelkedést előidézni.

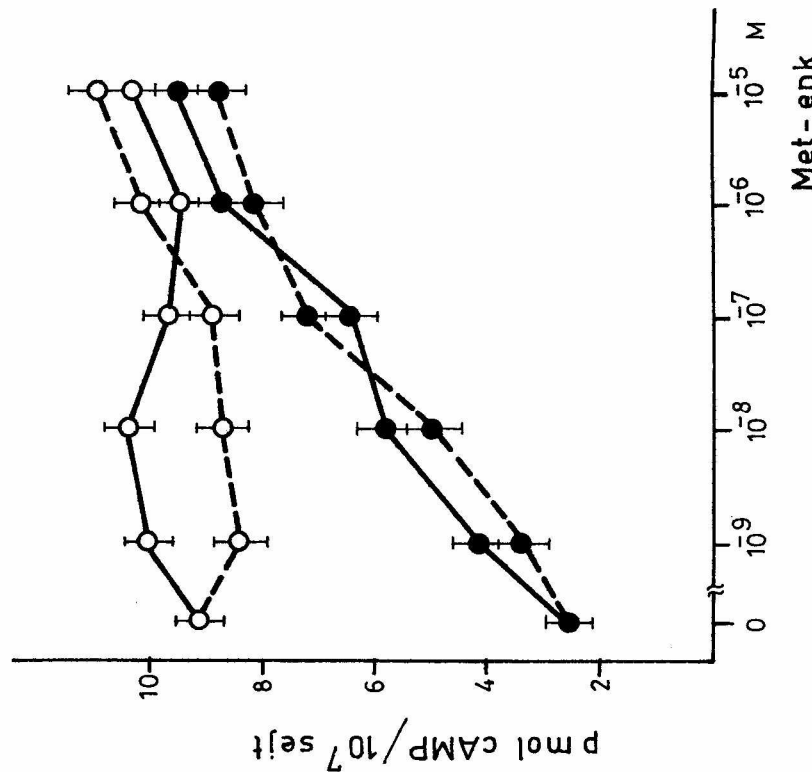
Ezek az eredmények világosan jelzik, hogy fiatalok esetében a Met-enk-nak a koncentrációtól függően kétféle effektusa van az adenilát-cikláz rendszerre, de idős korban ez az alternatív kapcsolási mechanizmus teljesen megromlik és a sejt csak egyféleképpen képes reagálni a stimulációra (Fülöp és mtsai 1985).

Visszatérve eredeti kiindulási pontunkhoz, különböző receptorokra vonatkozó kísérleteink eredményei is alátámasztják feltételezésünket, hogy a korral megváltozó funk-

41. ábra: Az IP által kiváltott cAMP szint emelkedés gátlása különböző koncentrációjú Met-enk-nal történő előkezelés után a fiatalok granulocitáiban



42. ábra: Az IP által kiváltott cAMP szint emelkedés megváltozása különböző koncentrációjú Met-enk hatására egésszéges idősek granulocitáiban



ciók háttérében általános receptor kapcsolási probléma áll fenn. Idős korban a receptor kapcsolat megromlik és ezáltal a receptorokon keresztül érkező ingerek - melyek különböző sejt funkciókat indukálnak - nem tudnak kellően érvényesülni.

6. EREDMÉNYEINK RÖVID ÖSSZEFOGLALÁSA

6.1. Zsíranyagcsere

A zsíranyagcsere vonatkozásában lényegében normális értékeket találtunk idős korban is, még ha egyes paraméterek látszólag - de nem szignifikánsan - el is tértek a fiatalokétól, főleg a nőknél, akár a növekedés (összcholeszterin, LDL-chol, VLDL, Tg), akár a csökkenés (HDL, szérumsav, HDL-chol) irányában.

6.2. Szénhidrát anyagcsere és inzulin szekréció

Az éhgyomri glukóz szint nem változik a korral, de az OGTT hatására a vércukor szint a teszt ideje alatt végig emelkedettebb, mint a fiatalok esetében. Az inzulin szint a megnövekedett cukor szintnek megfelelően nő. Az inzulin szekréció ezek szerint nem romlik a korral.

6.3. Hormon paraméterek

A pajzsmirigy, ACTH és kortizol hormonok vonatkozásában nem észleltünk idős korban biológiailag szignifikáns változást. Míg a PRA és aldoszteron szintek szignifikánsan csökkentek a korral.

6.4. Biokémiai és hematológiai paraméterek

Az anorganikus elemekben és a májenzimekben nem ész-

leltünk korral összefüggő biológiailag szignifikáns változásokat. A fehérjék esetében a férfiaknál az α_2 globulin nőtt, míg az albumin frakció mindkét nemben biológiailag szignifikánsan csökkent a korral. A γ globulin aránya az idős nők esetében emelkedett. A karbamid, bilirubin, kreatinin szintek nem változtak, viszont a kreatinin clearance szignifikánsan csökkent a korral, s ugyanígy a hemoglobin és vörösvérsejtszám is. A többi hematológiai paraméter vagy nem változott, vagy a normális felső határához volt közel (We, MCV). Az IgG és IgA mindkét nemben, míg az IgM csak a férfiaknál növekedett a korral. A CIC kifejezetten, a C3 kisebb mértékben volt magasabb idősokban.

6.5. Nyomelemek

A Zn, Cu, Fe, Al, Li, Mo, V, Cr, Co, Ni, Ba, Mn, Na, Ca csökkent a korral mind a szérumban, mind a sejtekben.

6.6. Testösszetétel alakulása

- A.) Intracelluláris testösszetevők: Nőknél a TBW, a KE, az ICV és az LBM szignifikánsan csökkent a korral, míg a TBF szignifikánsan nőtt. A férfiaknál a változások tendenciájukban egyeztek a nőknél észleltekkkel, de nem voltak szignifikánsak.
- B.) Extracelluláris testösszetevők: Nőknél a PV, az RCM, a TBV szignifikánsan nőtt, az ISV szignifikánsan csök-

kent, míg a NaE és ECV nem változott a korral. A férfiaknál a tendenciák ugyancsak egyeztek az előzőekkel (kivéve az RCM-t, mely csökkent), de nem voltak szignifikánsak.

- C.) Az izotópok eliminációs kinetikája csak a ^{35}S esetében mutatott korral összefüggő szignifikáns változást, amennyiben időssek esetében a kiválasztás lassúbb volt.
- D.) Mért vizek és hormonok korrelációjának vizsgálata: Csak az extracelluláris komponensek korreláltak szignifikánsan a hormonokkal, azokon belül is a PRA és az aldoszteron szinttel. Az észlelt korrelációk nyomán felmerül annak lehetősége, hogy a PRA és az aldoszteron víztér-szabályozó szerepe idős korra megváltozik.
- E.) AtII receptor és angiotenzináz aktivitás vizsgálata granulocitákon. Időssek esetében az AtII elveszti a receptoron keresztül érvényesülő, koncentrációtól függő, alternatív hatását az adenilát cikláz kapcsolásra és így a sejt nem tud megfelelő módon válaszolni a stimulálásra. Az angiotenzináz aktivitás idős korban kétszerese a fiatalokénak. Ezen elváltozások magyarázhatják a víztér változásokat és előre jelzik a receptor szinten a korral összefüggő eltéréseket.

6.7. Monocita és granulocita Fc γ R közvetített funkciók

Az Fc γ R-on keresztül történő fagocitózis nem változik

a korral sem monocitáknál, sem granulocitáknál. Az ADCC aktivitás csökken a korral mindkét sejttípus vonatkozásában, de a monocitáknál a csökkenés csak a férfiakon volt szignifikáns. Az intracelluláris killing a granulocitákban csökken a korral, de a csökkenés csak a férfiak körében szignifikáns.

6.8. Oxidatív metabolizmus alakulása

A.) Nyugvó granulocitákon: Az oxidatív metabolizmus (kemilumineszcencia, O_2 fogyasztás, O_2^- és H_2O_2 termelés) a korral szignifikánsan nő, viszont a detoxifikálás a glutation cikluson keresztül csökken (GSHPx aktivitás növekedés, GR aktivitás csökkenés), aminek következtében megnő a GS-SG/GSH arány.

B.) Stimuláció hatása: Fagocitózis: a szabadgyök termelés relative nő ugyan, de messze elmarad a fiatalokétól, míg a GSHPx aktivitás csökken, a GR aktivitás nő, ami az emelkedett GS-SG/GSH arány stagnálását eredményezi. A Ca ionofor és PMA hatására a sejtek tendenciájukban hasonlóan, de más mértékben reagálnak, mind a szabadgyök képzésben, mind a glutation ciklus aktivitásában, fiataloknál és időseknél egyaránt.

6.9. Intralizoszómális enzimek kiáramlásának mérése

A.) β -glükuronidáz: Alapszintben kor szerint nem mutatkozott

különbség. A CB nem eredményezett kiáramlást sem a fiataloknál, sem az időseknél, míg a Ca ionofor és LDL szignifikáns kiáramlást eredményezett mindkét csoportban, korral járó nagyobb különbségek nélkül.

B.) Elasztáz: Az alapszint nagyobb volt idős korban. A fiataloknál csak az LDL, míg időseknél mind a három fenti ágens szignifikáns kiáramlást eredményezett. Az LDL okozta kiáramlás a leginkább figyelemre méltó.

6.10. Receptorok működésének vizsgálata a korral

A.) Ca²⁺ transzport tanulmányozása

Alapjában a Ca²⁺ beáramlás idős korban csökkent a fiatalokéhoz képest, de nem szignifikánsan, viszont a kiáramlás nőtt. Ebben a tekintetben főleg a TFP szenzitív út csökkent. FMLP hatására a beáramlás nem változik, viszont a kiáramlás időseknél tovább nőtt, bár a fiatalokhoz képest kisebb mértékben. Ez szintén a TFP szenzitív út csökkenésével jár, tehát a Ca²⁺ döntő mértékben nem a kalmodulin dependens Ca-ATP-áz pumpán keresztül kerül ki a sejtből, hanem nagy valószínűséggel a Na⁺/Ca²⁺ kicserélődési mechanizmus útján.

B.) Ciklikus nukleotidák vizsgálata

A nyugvó sejtekben a cAMP szint alacsonyabb, míg a cGMP szint magasabb idős korban. Stimuláció hatására a cAMP

szint - a fiatalokéhoz hasonlóan - megemelkedik, de a fiatalokétól eltérően nem tér vissza az eredeti szintre. Stimuláció hatására a cGMP szint egyáltalán nem változik időseknél.

C.) Opioid receptor modell komplex vizsgálata

Különböző koncentrációju Met-enk-nal történő stimuláció hatása:

- az ADCC aktivitásra

- kis koncentrációban növelte az ADCC-t, melyet a naloxon kivédett;
- nagy koncentrációban viszont csökkentette az ADCC-t, melyet a naloxon nem védett ki;
- idősök esetében csak az ADCC gátló hatás érvényesült bármilyen koncentráció mellett.

- az oxidatív metabolizmusra (H_2O_2)

- kis koncentrációban növelte a H_2O_2 termelést, melyet a naloxon kivédett;
- nagy koncentrációban viszont csökkentette a H_2O_2 termelést, melyet a naloxon nem védett ki;
- idősök esetében csak a H_2O_2 termelés gátlása érvényesült bármilyen koncentráció mellett.

- a ciklikus nukleotidákra

az idősök esetében bármilyen koncentrációju Met-enk-nal történő stimuláció csak a cAMP szint növekedését váltotta ki, mindig változatlan cGMP szint mellett. A fi-

ataloknál a Met-enk - koncentrációtól függően - vagy gátolta az adenilát ciklázt (kis koncentráció), vagy stimulálta (nagy koncentráció). Ugyanakkor amikor az adenilát ciklázt gátolta, stimulálta a guanilát ciklázt. Az időssekben tehát csak az adenilát cikláz stimuláló mechanizmus működik. Az IP nem tudta tovább stimulálni a Met-enk kiváltotta cAMP szint emelkedést, mivel idős korban csak az adenilát cikláz stimulálható bármilyen Met-enk koncentráció mellett.

7. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE A REGULÁCIÓS MECHANIZMUSOK TÖKRÉBEN

Munkánkkal az egészséges szervezetben idős korra végbemenő bizonyos fiziológiai elváltozások és ezek regulációs mechanizmusának jobb megismeréséhez szándékoztunk hozzájárulni. Ennek érdekében egységes célunk volt az alapvető mechanizmusok minél jobb feltárása. Kísérletet tettünk továbbá a megismert elváltozások egy közös rendszerbe történő foglalására. Vizsgálataink több esetben olyan eredményeket hoztak, melyek eddig nem voltak ismertek.

Vizsgálatainkba csak egészséges időseket vontunk be, akiket előzőleg szigorú egészségi kritériumok alapján választottunk ki. Ilyen sokrétűen vizsgált egészséges idős csoportról kevés adat van az irodalomban, s bizonyára ez is az oka annak, hogy a változásokról nyert adataink visszhangra találtak a nemzetközi irodalomban is.

Az általános biokémiai, hematológiai, enzim- és immunparaméterekre kapott eredményeink megerősítik az irodalomban fellelhető főbb tendenciákat, mind a csökkenő paraméterek (albumin, kreatinin clearance, Hgb, vvs), mind a növekvő paraméterek (AP, IgG, IgA, CIC), mind pedig a változatlanok tekintetében (Na, K, Ca, P, Fvs) (Jernigan és mtsai 1980, Hale és mtsai 1983). A kreatinin és a karbamid esetében adataink eltérnek az irodalomban ismertetettektől. A para-

méterek döntő többségében ami kóros a fiatalok, az kóros az idősök esetében is. Eredményeink kapcsán tehát úgy tűnik, hogy korspecifikus biokémiai és hematológiai normák kialakítására általánosságban nincs szükség idős korban, bár vannak olyan paraméterek, melyek esetében ez indokoltnak látszik (pl. kreatinin clearance, IgG, karbamid). Hasonló helyzet áll fenn a lipidek vonatkozásában is, mert nő ugyan a lipidek mennyisége a korral, de az a normális határokon belül marad. A koleszterin összetevőinek aránya a HDL-chol rovására változik meg idős korra, ami az arterioszklerózis rizikóját tovább növeli. A nők esetében fokozottabb a zsírok ilyen irányú változása, és éppen ezért 60 év felett veszélyeztetettebbek pl. az arterioszklerózis (ATS) szempontjából, mint a férfiak.

Az irodalommal megegyezően kimutattuk, hogy az idősök glukóz toleranciája csökken, viszont az inzulin szekréció nő (Davidson 1979). Ez arra utal, hogy a glukóz tolerancia korral történő csökkenésének az alapvető mechanizmusa feltetelezhetően receptor és/vagy posztreceptorális szinten keresendő. Az izomtömeg csökkenése ugyanis önmagában nem magyarázza meg a jelenséget (De Fronzo 1981).

Eredményeink rávilágítanak arra, hogy az OGTT értékeket idősök esetében korspecifikusnak kell tekinteni és indokolt lenne új nomogrammok elkészítése a mindennapi orvosi gyakorlat számára. Megállapíthatjuk, hogy az OGTT csökke-

nésének mértéke nem független az életkörülményektől és a táplálkozástól, ami a befolyásolhatóság és így a megelőzés lehetőségének gondolatát vonja maga után. Végül kérdéses még a csökkent glukóz tolerancia kórosságának megítélése is időskorban.

A hormonokra vonatkozó eredményeink megerősítik az irodalmi adatokat, melyek a PRA és aldosteron szint idős korra bekövetkező csökkenését írták le (Santa és mtsai 1980). A PRA és az aldosteron hormonok csökkenése egyértelműen korspecifikus, és ezt az idősök laboratóriumi eredményeinek értékelése során a gyakorlatban nem lehet figyelmen kívül hagyni. Nagy szerepet játszhat ezen csökkenés az idős kori hipertonia patomechanizmusának megítélésekor is, mivel ennek figyelembevételével az esszenciális hipertonia hiporeninémiával járó válfaja lényegesen csökkenni fog. Hormon vizsgálataink arra is felhívják a figyelmet, hogy idős korban az endokrin státusz felmérésére dinamikus klinikai vizsgálatokra van szükség; a hormonok alapszint mérése önmagában nem kielégítő.

A testösszetétel komplex multiizotópos módszerrel történő vizsgálatát mi végeztük el először ilyen nagyszámu, homogén egészséges idős csoporton. A vizsgálat egyik igen fontos eredménye, hogy bár különbség van a férfiak és nők között a testösszetétel változások mértékében, de azok tendenciája azonos. Csökken a korral a TBW, ami főleg a KE és

végősoron az LBM csökkenésének a következménye. A TBF nő a korrall. Az ECV nem változik, de azon belül a PV nő az extracelluláris tér többi komponensével szemben. Ezek a változások alapvetően befolyásolják a só- vízháztartás homeosztázisát és magyarázatul szolgálnak arra, hogy idős korban már kisebb megterhelések is súlyos klinikai következményekkel járhatnak, amint azt a klinikus a mindennapi gyakorlatban észleli is. A normál testösszetétel változásoknak ismerete tehát rendkívül fontos a bekövetkező kóros változások megítéléséhez és ezzel összefüggésben a kezeléséhez is. Erre a célra prediktív egyenletek állnak ugyan rendelkezésre, ezek azonban nem alkalmasak a testösszetétel megfelelő becslésére (Fülöp és mtsai 1985).

A víztér és a hormonok összefüggéseit igen szoros korrelációk jellemzik a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer és a testösszetétel között. A legfigyelemre méltóbb a PV és a PRA, illetve aldoszteron negatív előjelű korrelációja. Az irodalomban ilyen jellegű adatokat nem találtunk. Lehetséges, hogy a vesefunkció romlása mellett a PRA és az aldoszteron csökkenése a felelős a PV növekedéséért. Viszont az ellenkezője is elképzelhető, nevezetesen, hogy a PV megnövekedése viaszaszorítja a renin termelést, ami kihat az aldoszteron termelésre is. Az aldoszteron szint csökkenésének másik magyarázata lehet - a csökkent PRA-n túl - az, hogy az angiotenzináz aktivitás megnő a korrall, amit - tudomásunk szerint - elsőként írtunk le.

Az angiotenzináz aktivitás korral történő növekedését granulocitákon mutattuk ki, felhasználva azt az endokrinológus körökben egyre inkább elterjedt vizsgálati módot, hogy a vér alakos elemeinek (vvs, monocita, granulocita) receptor vagy enzim vizsgálatai kapcsán nyerjenek adatokat bizonyos betegségekre vonatkozóan (diabétesz mellitusz, hipertonia, Alzheimer kór), általános és egyéni szinten egyaránt. A granulociták használata ezen vizsgálatokhoz nagyon előnyös, mivel homogén sejt populációt alkotnak, könnyen szeparálhatók és nem utolsó sorban, kielégítően reprezentálják a szervezet szöveteit.

Az angiotenzináz aktivitás korral járó lényeges növekedése - ha talán nem is játszik döntő fiziológiás szerepet - a fent említettek alapján tükörképe lehet annak, ami a szervezetben ténylegesen végbemegy.

A testösszetétel és a PRA, aldoszteron szint idős korra bekövetkező változásait alapul véve, elmondhatjuk, hogy a szervezet só- vízháztartása és annak az alapvető szabályozásában résztvevő hormonok termelése és metabolizmusa is megváltoznak idős korban. Úgy tűnik, hogy ahhoz, hogy az idős szervezet nagyobb fennakadás nélkül fenn tudja tartani a testösszetétel egyensúlyát - és ezzel egyidőben az elektrolit és vízháztartás homeosztázisát is - minden eddig leírt változásra szükség van. Ezt az összetett változást valószínűleg az alapjaiban megváltozott regulációs és

adaptációs mechanizmusok indokolják, melyek már csak a nyugalmi egyensúly állapotot (steady state-t) képesek fenntartani. Felmerül tehát, hogy az idős kori só- vízháztartás zavarok egyik legfontosabb okát a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer zavart működésében keressük. Ezek figyelembe vétele nagyon fontos klinikai következményekkel jár az idősek só- vízháztartás zavarainak kezelésében.

Eredményeink azzal a tapasztalati ténnyel összevetve, hogy bizonyos betegségek előfordulása a korral megnő (fertőzések, tumorok, degeneratív betegségek), átvezetnek a granulociták szerepéhez. A granulocitákkal, mint lehetséges modellekkel és az immunrendszer egyik fontos komponensével, a gerontológiai irodalom alig foglalkozik, mivel elterjedt az elképzelés, hogy funkcióik nem változnak a korral (Gardner és mtsai 1981). Több receptor működésének figyelembe vételével vizsgáltuk, hogy van-e a receptorok által közvetített effektor funkciókban változás és a receptor funkciókat szabályozó mechanizmusok kimutatásához modellként a granulocitákat használtuk.

Eredményeink megegyeztek abban az irodalmi adatokkal, hogy a fagocitózis nem változik a korral sem a granulocitákban, sem a monocitákban (McDevitt 1968, Nagel és mtsai 1982) és ez indirekte a receptor szám és affinitás állandóságára utal. Sikerült azonban tovább is lépni, első ízben kimutatva, hogy a fagocita sejtek effektor funkciói (ADCC,

intracelluláris killing) csökkennek a korral. Ez a felismerés alapvetően érinti eddigi ismereteinket.

Miután kimutattuk, hogy ezen effektor funkciók változnak a korral, sejteni lehetett, hogy a változást a transzmembrán szignalizáció zavara okozza. Célszerűnek látszott több szempontból tanulmányozni, hogy mi történik a sejteken belül, amikor a target sejt rákötődik az $Fc\gamma R$ -ra, bekebeleződik, majd normálisan elpusztul. Meg kellett még állapítani, hogy az elváltozások csak az $Fc\gamma R$ -ra vonatkoznak-e, vagy általános érvényűnek mondhatók idős korban.

Az effektor funkciókhoz szükség van a szabadgyökökre és az intralizoszomális enzimekre is, melyek aktivitása receptor függő.

A szabadgyök képzés - mely a fagocita rendszer sejtjeiben, így a granulocitákban is alapvető szerepet játszik a mikroorganizmusok, tumorsejtek, stb. elpusztításában - megváltozik a korral (Harman 1956, Leibovitz és mtsai 1980). Vizsgálatainkkal először mutattuk ki, hogy mind az O_2^- , mind a H_2O_2 termelés nő a nyugalomban lévő sejtekben, viszont a glutation redox cikluson keresztül történő detoxifikálás csökken és ez a GS-SG/GSH arány növekedését eredményezi. A nyugalomban lévő sejtekben a metabolizmus tehát az oxidáció felé tolódik. Ezen eredményeink összhangban vannak az öregedés szabadgyök elméletével (Harman 1956) és rámu-

tatnak annak lehetőségére, hogy az öregedés során észlelt változásokért és bizonyos betegségekért (lipid peroxidáció, lipofukszin felszaporodás, enzim dezaktiválás, SH csoportok oxidálása, arterioszklerózis, stb.) részben a szabadgyökök fokozott képzése és felszaporodása tehető felelőssé (Leibovitz és mtsai 1980). Az a megfigyelésünk, melyre vonatkozóan még irodalmi adatot nem találtunk, hogy a fagocitózis alatt a szabadgyök képzés intenzitása szignifikánsan csökken a korral, magyarázhatja, - egyebek között - a szervezet védekező képességének korral történő csökkenését. Fagocitózis alatt nemcsak kevesebb szabadgyök képződik, de detoxifikálásuk is tovább romlik, ami nem változtat ugyan a GS-SG/GSH arányon, de mégis további károkat okoz a sejteknek és a környező szöveteknek.

Ezek a megfigyelések hozzájárulhatnak az öregedés mechanizmusának jobb megértéséhez. A kimutatott szabadgyök felszaporodás magyarázata lehet u.i. az öregedés során észlelt számos elváltozásnak, mivel a szabadgyökök nemcsak közvetlenül képesek károsítani a szervezetet, de a védekezésben betöltött hasznos szerepüket sem látják el. Következésképpen megfelelő antioxidáns anyagokkal esetleg jelentősen lassítani lehet az öregedést. Jelenlegi tudásunk szerint ilyen antioxidánsok - amelyekkel már végeztek kísérleteket - a vitaminok közül a Vit A, E, C. Gyógyszerek közül pedig a centrophenoxint használják szélesebb körben. Az eddig el-

ért eredmények biztatónak tűnnek (Schneider és mtsai 1985).

A szabadgyök képzés első fázisának kulcsenzime az NADPH oxidáz, ami ciklikus nukleotida dependens (az alacsony cAMP szint stimulálja), azaz receptor függő. Ezt támasztják alá a Ca ionofor és a PMA stimuláció hatására létrejövő oxidatív metabolizmus paramétereinek értékei is, melyeknek mérését ugyancsak mi végeztük el először. A fenti anyagok az idősök és fiatalok sejtjeiben hasonló változásokat idéztek elő a szabadgyök képzésben és detoxifikálásában egyaránt, mutatván, hogy a fagocitózis során észlelt változások receptor függők. Ez tovább erősíti elképzelésünket, mely szerint a korral járó változások alapvető problémája a receptor kapcsolás szintjén lehet.

Az intralizoszómális enzimek is kulcsfontosságúak a szervezet védekező képessége szempontjából és bizonyos korral járó betegségek patogenezisében (pl. emfizéma, szekunder amiloidózis, ATS, stb.) is szerepet játszanak. Különösen jelentős az elasztáz és β glükuronidáz enzimek szintjének és kiáramlásának alakulása. Méréseink szerint idős korra az elasztáz szignifikánsan nőtt a férfiak granulocitáiban; míg a β glükuronidáz pedig a nők granulocitáiban. Idős korúak esetében az elasztáz kiáramló mennyisége a különböző stimulációk hatására nagyobb volt, mint a fiataloknál. Az elasztáz megnövekedett kiáramlásának szerepe lehet bizonyos idős kori - már említett - megbetegedésekben. Figyelemre

méltó az LDL által kiváltott nagyfokú granulocita elasztáz kiáramlás, mely a Baló és Banga (1949) által leírt érfal elasztin károsodás egyik fő komponense lehet. Így feltételezésünk szerint az elasztáz fontos szerepet játszhat az STS kialakulásában, vagyis az elasztáz inhibitoroknak szerepük lehet az ATS csökkentésében.

Kitűnik ezekből az adatokból, hogy a receptor indukálta effektor funkciók csökkenése együtt jár a szabadgyök képzés és az intralizoszómális enzimek stimulálhatóságának megváltozásával idős korban. Tekintettel arra, hogy a receptor stimulálásakor számos olyan biokémiai mechanizmus indul be, amely végső soron a sejt aktivitását szabályozza - többek között a fent említett szabadgyök képzést és intralizoszómális enzim aktivitást is - a továbbiakban az elindított kaszkád mechanizmus két fontos alkotó elemét vizsgáltuk meg különböző receptorok stimulálásakor.

A Ca^{2+} ion transzportot monocitákon vizsgáltuk. Eredményeink több szempontból is igen fontosak. A Ca^{2+} beáramlás FMLP hatására - mely specifikus receptoron keresztül hat a sejtre a Ca^{2+} metabolizmus szabályozásán keresztül - nem változott lényegesen az alapszinthez képest, viszont idős korban kisebb volt, mint a fiatalok esetében. Irodalmi adatok szerint az FMLP főleg a Ca^{2+} kiáramlás szabályozásán keresztül hat (Lagast és mtsai 1984). Ez a kiáramlás ugyanakkor a sejt aktiválás szabályozása szempontjából ta-

lán még a beáramlásnál is fontosabb (Mottola és mtsai 1982), mivel az intracelluláris tárolóhelyekről is szabadul fel Ca^{2+} , de ezirányú mozgásukról idős korban eddig még konkrét adatunk nincs. FMLP hatására a kiáramlás fokozódik az időssek esetében, de ez a kiáramlás nem a kalmodulin-függő Ca-ATP-ázon keresztül valósul meg, amit a TFP szenzitív út csökkenése is igazol. A TFP nemcsak a kalmodulin gátlására, hanem a Ca-ATP-áz pumpa direkt gátlására is képes. Mivel lényeges Ca^{2+} beáramlást nem tudtunk kimutatni, valószínű, hogy ebben a stimulációban a diacilglicerol (DG) játsza a kulcsszerepet, amelyen keresztül az FMLP a Ca^{2+} kiáramlását képes fokozni a sejtéből. Így a sejtéből történő Ca^{2+} kiáramlás mikéntje is megváltozik idős korban úgy, hogy nem a specifikus kalmodulin-függő Ca-ATP-áz pumpán keresztül megy végbe, mint a fiatalok esetében, hanem valószínűleg aspecifikus úton, a $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ kicserélési mechanizmus által. A Ca^{2+} ion transzport idős korra bekövetkező változása szintén alátámasztja azt a feltételezésünket, hogy a korral a receptor transzmembrán szignalizáció megváltozik. A Ca^{2+} beáramlás/kiáramlás megváltozása kihatással lehet: 1.) a kalmodulin aktiváló hatására; 2.) más reguláló molekulák aktivitására és 3.) a ciklikus nukleotidákra is (főleg a cGMP-re). A megváltozott aktiváló mechanizmusok befolyásolhatnak olyan biokémiai reakciókat is, melyek egyébként a sejtek pontos aktiválásához és így effektor funkcióik elvégzéséhez nélkülözhetetlenek.

Végül vizsgáltuk a ciklikus nukleotidákat, mint a receptor működés és ezáltal az effektor funkciók alapvető tényezőit.

A ciklikus nukleotidák - mint másodlagos hírvivők - meghatározzák a sejtek működését úgy, hogy gyakorlatilag nincs olyan sejtfunkció, amelyhez jelenlétük ilyen vagy olyan formában ne lenne szükséges. Vizsgálatunk eddig ismeretlen, alapvető adatokat szolgáltatathat az idős kori változásokra. Eredményeink szerint idős korban a stimuláció hatására bekövetkező cAMP szint megemelkedését és emelkedett szinten maradását 1.) az adenilát cikláz "turn off" hiánya vagy 2.) a foszfodiészteráz (PDE) csökkent aktivitása magyarázza. Az elsőként említett reakció függ a GTP-áz aktivitásától és a GTP, illetve a monovalens kationok (Na^+ , Li^+) szintjétől, de a legfontosabb a guanilát cikláz aktiválása lehet. A guanilát cikláz aktiválása - melyben a Ca^{2+} szint, a Ca^{2+} metabolizmus és a telítetlen zsírsavak oxidálása is részt vesz - az idős korban egyáltalán nem stimulálható, ami hozzájárulhat ahhoz, hogy idős korban a cAMP szint magas és a cGMP szint nem változik stimulálás hatására.

Érdekes, hogy a cGMP szint eleve magasabb idős korban, ami - többek között - abból az ismert tényből adódhat, hogy a nem telített zsírsavak peroxidációjára szükség van a receptoron keresztül történő cGMP formációhoz. Ezek a per-

oxidációs folyamatok már a nyugvó sejtekben is felfozaporodnak és előidéznek a cGMP emelkedett alapszintjét. Természetesen nem ez az egyetlen módja a cGMP képzésnek, mivel ebben a folyamatban a Ca^{2+} -kalmodulin indukált protein-kináz-rendszer is fontos szerepet játszik. Mégis felmerül a kérdés, hogy az oxidációs folyamatok csökkentésével nem lehetne-e a guanilát cikláz aktiválhatóságát növelni stimuláció alatt.

A cGMP szint növekedése és a cAMP szint csökkenése szükséges ahhoz, hogy a sejt effektor funkcióit ellássa, a megfelelő szabadgyök képzést biztosítsa és a Ca^{2+} transzport is zökkenő mentes legyen. Így a cGMP képzés idős korban észlelt elváltozásai súlyos következményekkel járhatnak a sejtre és a szervezetre egyaránt.

Eredményeinkből kitűnik tehát, hogy a receptorokhoz kapcsolódó két alapvető transzmembrán szignalizációs folyamat, a Ca^{2+} transzport és a ciklikus nukleotidok, alapvető elváltozásokat mutatnak a korról, amely elváltozások befolyásolják az általuk szabályozott szabadgyök képzést és intralizoszómális enzim kiáramlást is.

Ezen eredményeink az FcγR esetében magyarázzák, hogy miért képtelen a sejt normális effektor funkciók kivitelezésére idős korban, természetesen figyelembe véve az immunrendszer más sejtjeinek funkció változását is (pl. T limfocitákét). Gyakorlati jelentőségük is igen nagy lehet,

mert ha ezen elváltozások ismeretében specifikusan be tudnánk avatkozni a sejtek receptorokon keresztül történő aktiválásába, úgy a sejt működést és a szervezet egészének működését tudnánk befolyásolni.

A transzmembrán szignalizációban és a hormonok esetében észlelt zavarokat tekintve merült fel a kérdés, hogy mennyiben tekinthetők az $Fc\gamma R$ stimulálásakor észlelt elváltozások az idős korban általánosnak.

Az opioid és az AtII receptorokkal elsőként végzett kísérleteink alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a transzmembrán szignalizáció bármelyik receptoron keresztül történjék is, egyformán megromlik idős korban. Ez a megállapításunk utalhat a transzszignalizációs zavar jelentőségére a szervezet működésének minden szintjén.

Az opioid és az AtII receptorok képtelenek idős korban a kettős stimulálásra (kis koncentráció: guanilát cikláz aktiváló; nagy koncentráció: adenilát cikláz aktiváló) és ugyanúgy reagálnak, mint az $Fc\gamma R$, tehát magas cAMP és változatlan cGMP szinttel. Itt is a guanil cikláz aktiválhatóságával van probléma.

Kísérleteink során eljutottunk oda, hogy a megromlott effektor funkciókért, az inzulin hatástalanságáért, a só-vízháztartás változásáért, a hormonok megváltozott hatásáért a receptorokon keresztül történő biokémiai kaszkád mechanizmusok elváltozását tegyük felelőssé. A receptor in-

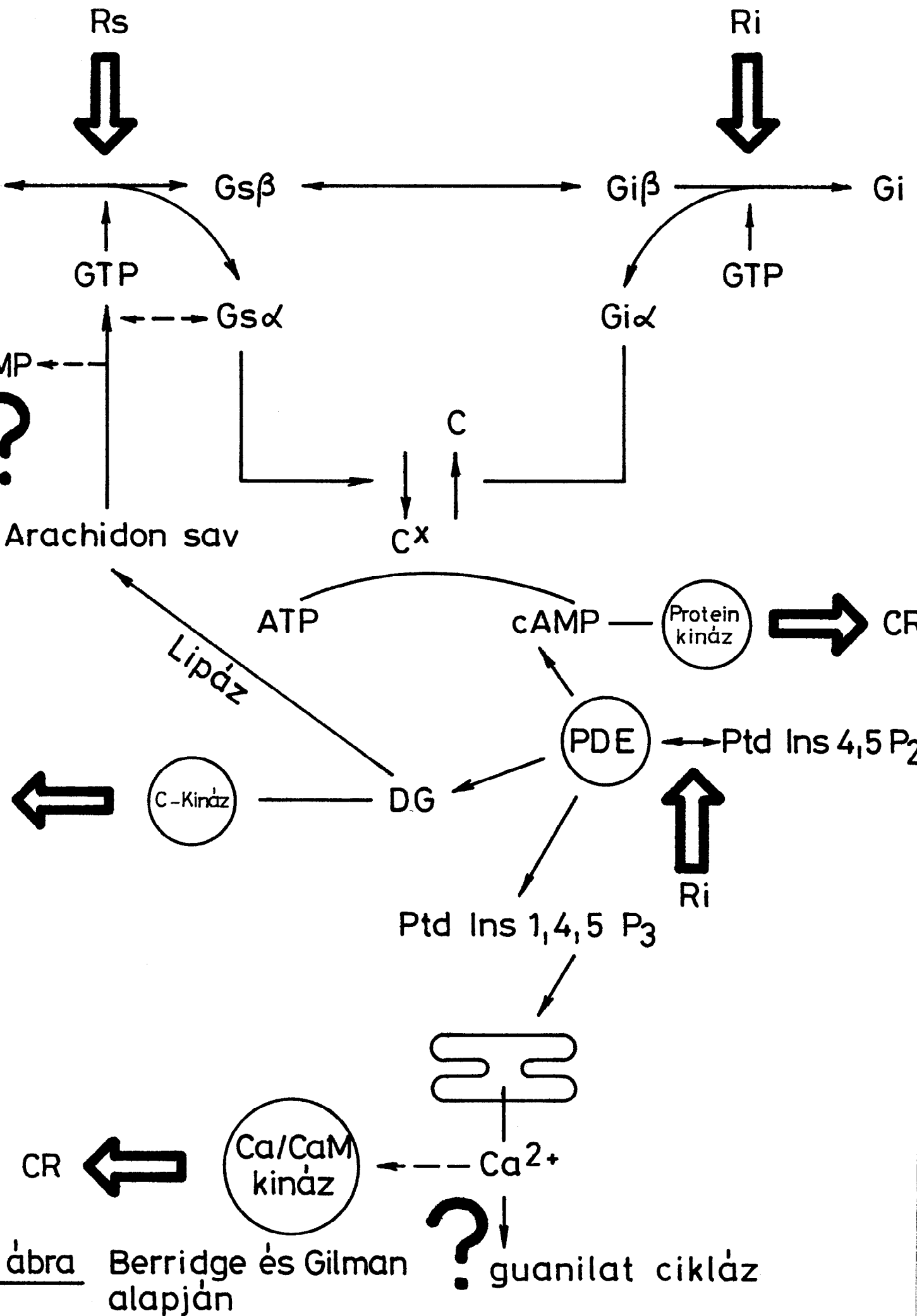
dukálta kaszkád mechanizmusokat egy ábrán szemléltetjük (43. ábra) Berridge és Gilman (1984) munkái alapján. Az ábrán lévő kérdőjelek jelzik az időséknél a problémákat. Feltételezzük, hogy az eredendő zavar a közös törzsnél van, azaz a PDE-nél, melynek működéséről azonban semmit nem tudunk idős korban.

Eredményeinket összegezve úgy tűnik, hogy sikerült egy korral járó olyan általános receptor transzmembrán szignalizációs zavart kimutatni, ami az időskor számos elváltozására ad magyarázatot és reményt is arra, hogy korrekciója akár farmakológiai eszközökkel, akár a táplálkozás vagy az általános életvitel megváltoztatásával sikeres lehet. Így számos betegség kivédésével az idős korúak életminőségét lényegesen javítani lehetne.

Kérdés azonban, hogy amit a granulocitákon kimutatunk, érvényes-e mindazokra a sejtekre is, melyek célsejtjei lehetnek a hormonoknak, neurotranszmittereknek, stb.

H.H. Fudenberg szavaival élve: "Mi és mások is azt találtuk, hogy különböző immunociták receptorokat tartalmaznak endogén neurotranszmitterekre (endorfinok, dopamin, szerotonin, P anyag), opiátokra, illetve különböző gyógyszerre. Ezek a receptorok hasonlóknak tűnnek azokhoz, melyek az agysejtekben vannak. Így a receptor működésében bekövetkező defektusok intrinzikék vagy az immunodepresszió révén másodlagosak és tesztekkel kimutathatók a peri-

A POSZTRECEPTORIÁLIS KAPCSOLÁS MECHANIZMUSA



fériás vérsejteken (pl. egyes Alzheimer betegeken). Természetesen lehetetlen boncolás előtt agysejteket nyerni erre a célra, de a vér sejtjei tartalmazzák az összes szükséges strukturát." Így a granulocitákon végzett receptor kísérleteink egy modell alapjait rakják le, melynek segítségével hatékonyan tudjuk monitorozni a receptorok elváltozásait a specifikus szervekre és specifikus betegségekre vonatkozólag.

Reméljük tehát, hogy vizsgálataink eredményei és a granulocita modell segítséget fognak nyújtani az öregedés jobb megismeréséhez, mindenekelőtt annak érdekében, hogy kóros következményeit a lehetőségek szerint megelőzni vagy ahol már ez nem lehetséges, érdemben csökkenteni lehessen. Így talán sikerült, hogy részben eleget tegyünk a bevezetésben említett Charcot idézet szellemének is:

- 1.) megkeresni az öregedés alapvető okait, illetve miértjét
- 2.) leírni az öregedés megnyilvánulásait, a szervek változásait, a fiziológiáját ... röviden, meghatározni az öregedés folyamatát, ahogyan az valójában végbemegy és kihangsúlyozni az öregedés betegségeit.

Végezetül sikerült talán megkezdennünk egy idős kori "posztreceptoriális elmélet" alapjainak lerakását, mely elmélet magában foglalva az eddigi teóriák nagy részét (immunológiai-, szabadgyök- és neuroendokrin elmélet), átfogó magyarázatot nyújthat az öregedés számos problémájára.

8. EREDMÉNYEK ÖSSZEGZÉSE

- 1.) Először vizsgáltuk meg hazánkban homogén, egészséges idős populációban azt, hogy hogyan alakulnak a különböző biokémiai, hematológiai paraméterek, a hormon szintek, a nyomelemek a szérumban és a sejtekben; továbbá a lipid és szénhidrát anyagcsere. Vizsgálataink során kiderült, hogy idős korban, eltekintve bizonyos paramétereiktől, nincsenek lényeges változások a normálisnak elfogadott biokémiai, illetve hematológiai értékekhez képest. A mégis meglévő változások figyelembe vétele viszont különösen fontos az idős kori egészségi problémák prevenciójában és terápiájában.
- 2.) Először sikerült kimutatnunk egészséges, idős populáción a testösszetétel változásait, mivel eddig csak kisszámú és inhomogén, gyakran beteg csoportokon végzett tanulmányok történtek, melyek ellentmondó adatokat szolgáltatottak. Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy a korral megváltozik a testösszetétel, az intracelluláris volumen csökken, míg az extracelluláris relatíve (ezen belül a PV abszolúte) nő. Ennek az összetétel változásnak a só- vízháztartás homeosztázisa és zavarainak kezelése tekintetében van nagy jelentősége. Eredményeink a testösszetétel szabályozásának jobb megismerését és ezáltal az érdemi beavatkozás lehetőségét

is szolgálják, mivel a testösszetétel változások és a hormonális státusz megváltozása között (PRA, aldosteron) kimutatott szoros összefüggés nagy gyakorlati jelentőségű lehet a só- vízháztartás megváltozásával járó kórképekben.

- 3.) Először sikerült kimutatnunk, hogy a granulocita és monocita effektor funkciók csökkennek idős korban. Ennek nagy jelentősége lehet a szervezet különböző betegségek elleni csökkent védekezésének jobb megértésében.
- 4.) A receptor transzmembrán szignalizációjának tanulmányozása során először mutattunk rá arra, hogy idős korban:
 - a.) a ciklikus nukleotidák aránya, stimulálhatósága, regulációja súlyosan károsodik;
 - b.) a Ca^{2+} metabolizmus alapjaiban megváltozik;
 - c.) az oxidatív metabolizmus fokozódik a nyugvó sejtben, míg stimulációra csak mérsékelten változik, a megromlott detoxifikáló mechanizmussal egyetemben;
 - d.) az intralizoszómális enzimek stimulálhatósága megváltozik.

Ezek a változások alapvetően magyarázzák az idős korban észlelt elváltozások jelentős részét azáltal, hogy a különböző ligandok receptor stimulációjában a transzmembrán szignalizáció kórosan megy végbe. Először mutattuk ki, hogy ez egy általános folyamat idős korban, azaz a szteroid receptor kivételével minden receptorra érvényes.

- 5.) Vizsgálataink lehetővé teszik egy olyan granulocita receptor tanulmányozási modell felállítását, amely igen nagy segítséget nyújthat a különböző kórképek (irodalmi és saját eredményeink alapján: Alzheimer kór, diabetes mellitus, Parkinson kór, stb.) granulocitákon történő tanulmányozására, melyekhez könnyen hozzá lehet jutni, homogének, tiszták és sok van belőlük. Így a patomechanizmus tisztázásán túlmenően a legmegfelelőbb terápiás eszközök kipróbálására is alkalmasnak látszanak.
- 6.) Végül úgy tűnik, hogy a receptor funkciókban észlelt változások általános mivoltuknál fogva az alapját képezhetik egy posztreceptoriális kapcsolási elméletnek, mely más öregedési elméleteket is egyesítve, átfogóan magyarázhatná az öregedést.

Tehát az elméletnek az a lényege, hogy a szervezetben ható anyagok többsége, illetve számos effektor funkció receptoron keresztül érvényesül, kiváltván a celluláris választ, de úgy tűnik, idős korban a posztreceptoriális kapcsolat megváltozik és így a sejt képtelen adekvát módon reagálni a receptor stimulációra. Így magyarázhatók lennének és érthetőbbé válnának a korral bekövetkezett immun, endokrin, anyagcsere, stb. változások, melyek összességükben jellemzik az öregedést.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet fejezem ki DR. LEÜVEY ANDRÁS professzor úrnak. Köszönöm messzemenő szellemi és erkölcsi támogatását, mely lehetőséget biztosított a munka elvégzésére és az értekezés megírására.

Köszönetet mondok DR. FÓRIS GABRIELLA tanárnőnek a sokrétű és megértő személyes segítségért, a mindennemű támogatásért, mely lehetővé tette, hogy az értekezés megszülethessen.

Hálával és köszönettel tartozom a Feleségemnek, Dr. Mudri Katalinnak, aki megértőleg állt mellettem a munka egész ideje alatt és szakmailag is sokat segített.

Megkülönböztetett módon kell megemlékeznem Dr. Wórum Imre adjunktus úr szakmai és baráti felbecsülhetetlen segítségéről.

Nem különben nagy hálával tartozom Dr. Kertai Pál professzor úrnak, Dr. Kövér András professzor úrnak, Vargáné Hajdu Piroska Dr.-nak, Dr. Csongor József adjunktus úrnak, Dr. Bars László főorvos úrnak, Dr. Szabó Tibor tanár úrnak, Dr. Muszbek László tanár úrnak, akik felbecsülhetetlen módon segítettek munkájukkal, tanácsaikkal és kritikus hozzáállásukkal az értekezés létrejöttét. Hálával tartozom és köszönetet mondok Dr. Nagy Béláné, Kovács Gyulánénak, Dr. Lenkey Bélánénak, Virágh Lajosnénak, Tóth Vincénének, Gál

Magdolnának, Lukács Teréziának a kísérletek kivitelezésében végzett kitűnő munkájukért és Kopeczné Zöld Melindának, aki az értekezés összeállításában és lelkiismeretes gépelésében nyújtott önzetlen segítséget.

Külön köszönetet mondok Dr. Papp Lajos tanár úrnak, Dr. Kovács Zoltán adjunktus úrnak és Barcsa Gáborné asszisztensnek a nyomelemek meghatározásáért.

Hálával tartozom Kortman Norbertnének, aki önzetlen módon segített az irodalmazásban.

Külön köszönet illeti Mudri Ágneszt, aki az ábrák kivitelezésében nyújtott magas technikai színvonalú és önzetlen segítséget.

Hálás vagyok az I. sz. Belklinika minden dolgozójának, akik valamilyen módon hozzájárultak az értekezés elkészítéséhez.

IRODALOMJEGYZÉK

- Amman, A.J., Schiffman, G., Austrian, R.: The antibody responses to pneumococcal capsular polysaccharides in aged individuals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 164, 312 (1980)
- Annat, G., Vincent, M., Tourniaire, A., Sassad, J.: Relationships between blood pressure and plasma renin aldosterone and depanine beta-hydroxylase in the elderly. *Gerontology* 27, 266 (1981)
- Árvay, S.: Reproduction and aging. In: *Hypothalamus, Pituitary and Aging*. Everitt, A.V. and Burges, J.A. (ed) Thomas Springfield p. 362 (1976)
- Atkinson, R.L., Dahms, W.T., Fischer, D.A., Nichols, A.L.: Occult thyroid disease in an elderly hospitalized population. *J. Gerontol.* 33, 372 (1978)
- Babior, B.M., Kipnes, R.S., Curnutte, J.T.: The production by leukocytes of hyperoxide, a potential bactericidal agent. *J. Clin. Invest.* 52, 741 (1973)
- Babior, B.M.: The respiratory burst of phagocytes. *J. Clin. Invest.* 73, 599 (1984)
- Banga, I., Baló, J., Szabó, D.: The structure, ageing and rejuvenation of collagen fibres. *Experientia. Suppl.* 4, 28 (1956)
- Báthori, G., Beregi, E., Petrányi, G.Gy.: Lymphocyte subpopulation changes by aging. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1, 129 (1982)
- Bauer, J.H., Burt, R.W., Whang, R., Grim, C.E.: Simultaneous determination of extracellular fluid and total body water I. *J. Lab. Clin. Med.* 86, 1003 (1975)
- Baló, J., Banga, I.: Elastase and elastase inhibitor *Nature (Lond)* 164, 491 (1949)

- Bauer, J.H., Burt, R.W., Whang, R., Grim, C.E.: Volume studies II. Simultaneous determination of plasma volume, red cell mass, extracellular fluid and total body water before and after volume expansion in dog and man. *J. Lab. Clin. Med.* 86, 1009 (1975)
- Benke, M.D., DeMicco, F.J., Taper, L.J., Ritchey: Copper and Zinc utilization in elderly adults. *J. Gerontol* 36, 558 (1981)
- Bennett, P.M.: The diagnosis of Diabetes: new international classification and diagnostic criteria. *Ann. Rev. Med.* 34, 295 (1983)
- Berridge, M.J.: Inositol triphosphate and diacylglycerol as second messengers. *Biochem J.* 220, 345 (1984)
- Beregi, E.: Morphology of antibody-forming cells in young and aged experimental animals. *Mech. Age. Dev.* 1, 233 (1972)
- Beregi, E., Biró, J., Regius, O.: Age related morphological changes in lymphocytes as a model of aging. *Mech. Age. Dev.* 14, 173 (1980)
- Berg, B.N.: Pathology and aging. In: Hypothalamus, pituitary and aging. Everitt, A.V. and Burges, J.A. (ed) Thomas Springfield p. 43 (1976)
- Beutler, E.: Red cell metabolism. In Manual of biochemical methods, Grune-Straton, N.Y. p. 69 (1975)
- Birkenfeld, A., Ben-Zwi, A.: Age associated changes in intracellular cyclic adenosine trionophosphate. *Clin. exp. Immunol.* 55, 651 (1984)
- Bjorksten, J.: Crosslinkage and the aging process. In: Theoretical aspects of aging. Rockstein, M. (ed) Academic Press N.Y. p. 43 (1974)

- III -

- Björntorp, P., Berchtoldt, P., Tibblin, G.: Insulin secretion in relation to adipose tissue in man. *Diabetes* 20, 65 (1971)
- Blichert-Toft, M., Hummer, L.: Immunoreactive ACTH reserve in old age in man during and after surgical stress. *J. Gerontol.* 31, 539 (1976)
- Blumenthal, H.T., Bems, A.W.: Autoimmunity in aging, in Strehler: Recent advances in gerontological research. pp. 289-304 (Academic Press New York) (1964)
- Böyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *J. Lab. Clin. Med. Suppl.* 97, 77 (1968)
- Brittinger, G.S., Hirsthorn, R., Douglas, S.D., Weissman, G.: Studies on lysosomes XI. Characterisation of hydrolase rich fraction from human leukocytes. *J. Cell Biol.* 37, 394 (1968)
- Burnet, F.M.: An immunological approach to aging. *Lancet* 2, 358 (1970)
- Burnet, F.M.: A genetic interpretation of aging. *Lancet* 2, 480 (1973)
- Calmodulin Symposion Fed. Proc. 43, 2994 (1984)
- Caplan, R.H., Wickus, G., Glaser, J.E., Davis, K., Wahner, H.W.: Serum concentrations of iodothyronines in elderly subjects: decreased T3 and free T3 index. *J. Amer. Geriat. Soc.* 29, 19 (1981)
- Cheung, W.J.: Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation. *Science (W.D.C.)* 207, 19 (1980)
- Chuknipka, R.S., Haji, M., Foote, R.H., Roth, G.S.: Age-associated changes in nuclear binding of Rat uterine estradiol receptor complexes. *Endocrinology* 116, 547 (1985)

- Cristofalo, V.J.: Metabolic aspects of aging in human diploid cells. In: Aging in cell and tissue culture. Holechova, E., Cristofalo, J.F. (eds) Plenum, N.Y. pp. 83-103 (1970)
- Comfort, A.: Aging, the biology of senescence. Holt, Rinehart and Winston, N.Y. (1964)
- Comfort, A.: Biological theories of aging. Hum. Dev. 13, 127 (1970)
- Corberand, J., Hgyen, F., CaHarrangue, P., Fontanilles, A. M. Gilyzes, B., Gyrard, E., Senegas, C.: Polymorpho-nuclear and aging in humans. J. Amer. Geriatr. Soc. 29, 391 (1981)
- Cornwell, D.C., King, F.A., Mauwi, G.J., Brown, J.B.: Studies on characterization of human serum lipoproteins separated by ultracentrifugation in a density gradient. Amer. J. Chem. Nutr. 9, 24 (1961)
- Curtis, H.J., Coebhard, K.L.: Comparison of life-shortening effect of toxic and radiation stress. Radiat. Res. 9, 104 (1958)
- Cox, J.R., Chalaby, W.A.: Potassium changes with age. Gerontology 27, 340 (1981)
- D'Angelo, V., Villa, S., Mysliwietz, M., Donati, M.B., de Gaetano, G.: Defective fibrinolytic and prostacyclin like activity in human atheromatous plaques. Thromb. Haemostasis 39, 535 (1978)
- Davidson, M.B.: The effect of aging on carbohydrate metabolism: a review of the English literature and a practical approach to the diagnosis of diabetes mellitus in the elderly. Metabolism. 28, 688 (1979)
- Dausset, J., Svejgaard, A.: HLA and disease. Munksgaard, Copenhagen pp. 316 (1977)
- De Fronzo, R.A.: Glucose intolerance and aging. Diabetes Care 4, 493 (1981)

- de Weck, A.L., Kristensen, F., Joncourt, F., Bettens, F., Walker, C., Wary, Y.: Lymphocyte proliferation, Lymphokine protuction and lymphocyte receptors in ageing and various clinical conditions. Springer. Semin. Immunopathol. 7, 273 (1984)
- Dioguardi, N.L.A., Agostai, A., Fiorelli, G., Lamonte, A.: Characterization of latic dehydrogenase of normal human granulocytes. J. Lab. Klin. Med. 61, 713 (1963)
- Doll, R., Muir, C., Waterhous, J.: Cancer incidence in five continents. vol. 2. IVCC (Spinger, Berlin) (1970)
- Doni, M.G., Bonaccorso, G., Piva, E.: High glutathione peroxidase and prostacyclin-like activity generation in rat aorta. Haemostasis 13, 248 (1983)
- Dudl, R.J., Erink, J.W., Palmer, H.E., Williams, R.H.: Effect of age on growth hormone secretion in man. J. clin. endocr. 37, 11 (1973)
- Edelson, P.J., Cohn, Z.A.: Peroxidase-mediated mamalian cell cytotoxicity. J. Exp. Med. 138, 318 (1973)
- Eggstein, M.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe II. Zuverlässigkeit der Methode, andere Neutralfettbestimmungen Normalwerte für Triglyceride und Glycerin im menschlichen. Blut. Klin. Wschr. 44, 267 (1966)
- Eggstein, M., Kreutz, F.H.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe I. Prinzip Durchführung im Besprechung der Methode. Klin. Wschr. 44, 262 (1966)
- Everitt, A.V.: The hypothalamic-pituitary control of aging and age-related pathology. Exp. Gerontol. 8, 265 (1973)
- Everitt, A.V.: The neuroendocrine system and aging. Gerontology 26, 108 (1980)

- Fabris, N., Pierpaoli, W., Sarkin, E.: Lymphocytes, Hormones and Ageing. *Nature* 240, 537 (1972)
- Failla, G.: The aging process and carcinogenesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 71, 1124 (1953)
- Faragó Anna: Ciklikus nukleotidák jelentősége a hormonális szabályozásban. *Aesculap sorozat. Bp. p. 104* (1981)
- Fehér, J., Vereczkei, A.: A szabad gyök reakciók klinikai jelentősége. *Orvosképzés LIX*, 382 (1984)
- Finch, C.E.: The regulation of physiological changes during mammalian aging. *Quart. Rev. Biol.* 51, 49 (1976)
- Fink, R.I., Kolterman, O.G., Olefsky, J.M.: The physiological significance of the glucose intolerance of aging. *J. Gerontol.* 39, 273 (1984)
- Fóris, G., Dezső, B., Medgyesi, G.A., Füst, G.: Effect of angiotensin II on macrophage functions. *Immunology* 48, 529 (1983)
- Fóris, G., Füst, G., Medgyesi, G.A.: The effect of oligopeptides on the C3b receptor-mediated functions of rat macrophages. *Immunol. Lett.* 6, 7 (1983)
- Frantrell, A., Ingelmark, B.E.: Occurance and distribution of fat in human muscles at various age levels. *Acta Soc. Med. Upsal.* 56, 59 (1951)
- Frolkis, V.V., Golovchenko, S.V., Medved, V.I., Frolkis, R.A.: Vasopresin and cardiovascular system in aging, *Gerontology* 28, 290 (1982)
- Fülöp, T., Fóris, G., Wórum, I., Leövey, A.: Changes in phagocytic cell functions with age. *Folia Allergologica et immunologica clinica Vol. XXX. Suppl. (abstract)* (1983)

- Fülöp, T., Fóris, G., Wórum, I., Leövey, A.: Age dependent changes of the $Fc\gamma$ receptor mediated functions of human monocytes. *Int. Archs. Allergy appl. Immun.* 74, 76 (1984)
- Fülöp, T., Fóris, G., Leövey, A.: Age-related changes in cAMP and cGMP levels during phagocytosis in human polymorphonuclear leukocytes. *Mech. Age. Dev.* 27, 233 (1984)
- Fülöp, T., Wórum, I., Csongor, J., Fóris, G., Leövey, A.: Interrelation between body composition and endocrine system in healthy elderly, *Mech. Age. Dev.* 28, 430 (1984)
- Fülöp, T., Fóris, G., Wórum, I., Leövey, A.: Age dependent alterations of $Fc\gamma$ receptor mediated effector functions of human polymorphonuclear phagocytes. *Clin. exp. Immunol.* 61, 425 (1985)
- Fülöp, T., Fóris, G., Wórum, I., Paragh, G., Leövey, A.: Age related variations of some PMNL functions. *Mech. Age Dev.* 29, 1 (1985)
- Fülöp, T., Wórum, I., Csongor, J., Fóris, G., Leövey, A.: Body composition in elderly people I. Determination of body composition by multiisotope method and the elimination kinetics of these isotopes in healthy elderly subjects. *Gerontology* 31, 6 (1985)
- Fülöp, T., Wórum, I., Csongor, J., Fóris, G., Leövey, A.: Body composition in elderly people II. Comparison of measured and predicted body composition in healthy elderly subjects. *Gerontology* 31, 150 (1985)
- Fülöp, T., Wórum, I., Fóris, G., Mudri, K., Bars, L., Leövey, A.: Monocita effektor funkciók változása idős korban. *Kísérlet. Orvostud.* 37, 248 (1985)
- Fülöp, T., Wórum, I., Bars, L., Fóris, G., Mudri, K., Leövey, A.: Standardizált szociális és táplálkozási körülmények között élő idős emberek főbb anyagcsere paraméterei. I. A zsíryanycsere. *Egészségtudomány (közlés alatt)*

- Fülöp, T., Hauck, M., Kékessy, D., Fóris, G., Wórum, I.,
Leövey, A.: The physiologic significance of the Glutathione
Redox Cycle in resting and Stimulated human PMNLs.
Studies on PMNLs obtained from Healthy Young and Aged
Subjects. Clin. Immunol. Immunopathol. (közlésre el-
fogadva)
- Fülöp, T., Kékessy, D., Fóris, G.: Impaired Coupling of
Naloxone Sensitive Opiate Receptors to Adenylate
Cyclase in PMNLs of Aged Male Subjects. Mol. Immunol.
(közlésre beküldve)
- Fülöp, T., Wórum, I., Varga S-né, Fóris, G., Bars, L., Szabó,
T., Mudri, K.: Standard szociális és táplálkozási körülmények között élő idős egészséges emberek főbb anyagcsere paraméterei. II. Szénhidrát anyagcsere.
Egészségtudomány (közlésre beküldve)
- Fülöp, T., Wórum, I., Szabó, T., Bars, L., Fóris, G., Varga
S-né, Mudri, K., Leövey, A.: Standard táplálkozási és
szociális körülmények között élő idős egészséges emberek
főbb anyagcsere paraméterei. III. A hypophysis, pajzsmirigy, mellékvese hormonok vérszintje. Egészségtudomány
(közlésre beküldve)
- Fülöp, T., Wórum, I., Szabó, T., Bars, L., Fóris, G., Varga
S-né, Mudri, K., Leövey, A.: Standard táplálkozási és
szociális körülmények között élő idős egészséges emberek
főbb anyagcsere paraméterei. IV. Hematológiai és biokémiai paraméterek. Egészségtudomány (közlésre beküldve)
- Fülöp, T., Fóris, G., Wórum, I., Leövey, A.: Intralysosomal
enzyme release from PMNLs of aged and young subjects
under various stimulation. Immunobiology (közlésre beküldve)

Fülöp, T., Wórum, I., Varga, S-né, Fóris, G., Bars, L.,
Mudri, K., Leövey, A.: Blood laboratory parameters of
carefully selected healthy elderly people. Scand. J.
Clin. Lab. Invest. (közlésre beküldve)

- Gardner, I.D.: The effect of aging on susceptibility to infection. *Rev. Infect. Dis.* 2, 801 (1980)
- Gardner, I.D., Lim, S.K., Lawton, J.W.: Monocyte functions in aging humans. *Mech. Age. Dev.* 16, 233 (1981)
- Gennaro, R., Pozzan, T., Romeo, D.: Monitoring of cytosolic free Ca^{2+} in C5a-stimulated neutrophils: Loss of receptor mediated Ca^{2+} stress and Ca^{2+} uptake in granule free cytoplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 1416 (1984)
- Gergely, J.: Immunológiai változások időskorban. In: Üregedés Beregi, E. (Szerk.) Akadémiai Kiadó Bp. pp. 62-75 (1984)
- Gershwin, M.E., Beach, R., Hurly, L.: Trace metals, Aging and Immunity. *J. Geriatr. Soc.* 31, 374 (1983)
- Gilbert, J.A., Richelson, E.: Function of delta opioid receptors in cultured cells. *Mol. Cell. Biochem.* 55, 83 (1983)
- Gilman, A.G.: Guanine Nucleotide-binding regulatory proteins and dual control of adenylate cyclase. *J. Clin. Invest.* 73, 1 (1984)
- Gilman, A.G.: G-proteins and dual control of adenylate cyclase. *Cell*, 36, 577 (1984)
- Gordon, T., Castelli, W.P., Hjortland, M.C., Kannel, W.B., Dawler, T.R.: High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham study. *Am. J. Med.* 62, 707 (1977)
- Gregerman, R.I.; In: Wenner, S.C., Ingbar, S.H. (eds) The Thyroid. Hayer and Rowe N.Y. p. 224 (1978)
- Greenberg, L.J., Yunis, E.J.: Immunologic control of aging: a possible primary event. *Gerontologia*, 18, 247 (1972)
- Gunderson, E.K., Rahe, R.M.: Life stress and illness. Thomas Springfield N.Y. (1974)

- Hahn von H.P.: A model of regulatory aging of the cell at the gene. *J. Gerontol.* 21, 291 (1966)
- Hale, W.E., Stewart, R.B., Marks, R.G.: Haematological and biochemical laboratory values in an ambulatory elderly population, an analysis of the effects of age, sex and drugs. *Age Aging.* 12, 275 (1983)
- Halliwell, B.: Biochemical mechanism accounting for the toxic action of oxygen in living organisms: the key role of superoxide dismutase. *Cell. Biol. Intern. Reports.* 2, 113 (1978)
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C.: Oxygen toxicity, oxygen radicals transition metals and disease. *Biochem. J.* 219, 1 (1984)
- Hallpen, H.M., Buckley, C.E., Gilbertsen, V.A.: Lymphocyte phytohemagglutinin responsiveness, immunoglobulins and autoantibodies in ageing humans. *J. Immunol.* 111, 1101 (1973)
- Halper, J.P., Mann, J.J., Weckslar, M.E., Bibikian, J.P., Sweeney, J.A., Brown, R.P., Golbourne, T.: β adrenergic receptors and cAMP levels in intact human lymphocytes. Effect of age and gender. *Life Sci.* 35, 855 (1984)
- Hamilton, W.F., Moore, J.W., Kingman, J.M., Sparling, R.G.: Studies on the circulation IV: Further analyses of the injection method and of changes in hemodynamics under physiological and pathological conditions. *Am. J. Physiol.* 99, 534 (1932)
- Harman, D.: Aging a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* 11, 298 (1956)
- Harman, D.: Role of free radicals in nutrition, cancer, aging and the maintenance of life. *Radiat. Res.* 16, 753 (1962)

- Jávor, T., Horváth, T.: A szabad gyökök biológiai jelentőségének klinikai vonatkozásai. Orv. Akt. Probl. Medicina Bp. p. 71 (1985)
- Jernigan, J.A., Gudat, J.C., Blake, J.C., Bowen, L., Lerotte, D.C.: Reference values for blood findings in relatively fit elderly persons. J. Am. Geriatr. Soc. 28, 308 (1980)
- Johnston, R.B., Kale, B.B., Misra, H.P., Lehmyer, J.E., Webb, L.S., Bachner, R.L., Rajaegopalan, K.V.: The role of superoxide anion generation in phagocytic bactericidal activity. J. Clin. Invest. 53, 1357 (1975)
- Kanungo, M.S.: A model for aging. J. Theor. Biol. 53, 253 (1977)
- Kay, M.M.B.: Autoimmune disease. The consequence of deficient cell function. J. Amer. Geriatr. Soc. 24, 253 (1976)
- Kávai, M., Zsindely, A., Sonkoly, I., Major, M., Demjén, I., Szegedi, Gy.: Signals of monocyte activation in patients, with SLE. Clin. exp. Immunol. 51, 255 (1983)
- Kennes, B., Shubert, C., Brokee, D.: Early biochemical events associated with lymphocytes activation in aging. I. Evidence that Ca^{2+} dependent processes induced by PHA are impaired. Immunology 42, 119 (1981)
- Kennes, B., Dumont, I., Pico, I., Néve, P.: Age related defect of cytokine Ca^{2+} - cGMP mediated transmembrane signal in T lymphocytes activation. In: Protides of the biological fluids. Proc. 29th Colloquium, 1981 Pergamon Press, Oxford pp. 333 (1982)
- Kimmerling, G., Javorski, C., Reaven, G.M.: Aging and insulin resistance in a group of nonobese male volunteers. J. Am. Geriatr. Soc. 25, 329 (1977)

- Harman, D., Heidrick, M.L., Eddy, D.E.: Free radical theory of aging: effect of free radical-reaction inhibitors on the immune response. *J. Amer. Geriatr. Soc.* 25, 400 (1977)
- Haxhé, J.G.: Mesure des compartiments corporels méthodes et résultats. *J. Physiol. (Paris)* 56, 7 (1964)
- Hayflick, L.: Cell culture and the aging phenomenon. In topics in the biology of aging. Krohn, P.L. (ed) Wiley, N.Y. p. 83 (1966)
- Hayflick, L.: Current theories of biological aging. *Fed. Proc.* 34, 9 (1975)
- Hazelton, G.A., Lang, C.A.: Glutathione peroxidase and glutathione reductase activities in the aging mouse. *Mech. Age. Dev.* 29, 71 (1985)
- Hissin, P.J., Hilf, R.: A fluorimetric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 74, 214 (1976)
- Holmes, B., Pack, D.M., Malanista, S.E., Quie, P.G., Nelson, D.L., Good, R.A.: Chronic granulomatous disease in females. A deficiency of leukocyte glutathione peroxidase. *N. Engl. J. Med.* 283, 217 (1970)
- Hornebeck, W., Potasman, J.P., De Cremoux, H., Bellon, G., Robert, L.: Elastase type activity of human serum. Its variation in chronic obstructive lung disease and atherosclerosis. *Clin. Physiol. Biochem.* 1, 285 (1983)
- Hurdle, A.D.F., Rosin, J.A.: Red cell volume and red cell survival in normal aged people. *J. Clin. Pathol.* 15, 343 (1962)
- Inkeles, B., Innes, J.B., Kuntz, M.M.: Immunological studies of aging III. Cytokinetic basis for the impaired response of lymphocytes from aged humans to plant lectins. *J. Exp. Med.* 145, 1176 (1977)

- Klebanoff, S.J.: Antimicrobial mechanisms in neutrophil polymorphonuclear leukocytes semin. Hematol. 12, 117 (1975)
- Klorfajn, I., Hinalg, O., ChemIng, Sh.A.: A study on the serum lipids of the elderly. J. Gerontol. 33, 48 (1978)
- Kohrs, M.B.: The nutritional program for older americans: evaluation and recommendations. J. Am. Diet. Assoc. 75, 543 (1979)
- Krall, J.F., Connelly-Fittingoff, C.D., Muck, M.L.: Lymphocyte adenylate cyclase and human ageing. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 173, 475 (1983)
- Kumagai, K., Itoh, K., Himura, S., Tada, M.: Pretreatment of plastic Petri dishes with fetal calf serum. A simple method for macrophage isolation. J. Immunol. Methods 29, 17 (1979)
- Lackó, A.G., Carlike, Sh., Kudihodkar, B.J.: Evaluation of lipid and lipoprotein metabolism in rats as a model for studying age-related physiological changes. J. Gerontol. 39, 513 (1984)
- Lad, P.M., Glorsky, M., Smiley, P.A., Klempner, M., Reisniger, D.M., Richards, J.M.: The β adenergic receptor in human neutrophil plasma membrane receptor-cyclase uncoupling is associated with amplified GTP activation. J. Immunol. 132, 1466 (1983)
- Lagast, H., Lew, P.D., Waldvogel, F.A.: Adenosine triphosphate dependent calcium pump in the plasma membrane of quinea pig and human neutrophils. J. Clin. Invest. 73, 107 (1984)
- Leask, R.G.S., Andrews, G.R., Caird, F.I.: Normal values for sixteen blood constituents in the elderly. Age Aging 2, 14 (1973)

- Lehmeyer, J.E., Johnston, R.B.: Effect of anti-inflammatory drugs and agents that elevate intracellular cAMP on the release of toxic metabolites by phagocytes. Studies in a model of tissue bound IgG. Clin. Immunol. Immunopath. 9, 482 (1978)
- Leibovitz, B.E., Siegel, B.V.; Aspects of free radical reactions in biological systems: Aging. J. Gerontol. 35, 45 (1980)
- Levy, J.A.: Nutrition and the immunsystem. In: Basic and clinical immunology D.P. Stites (ed) Lange Med. Publ. Los Alamos USA p. 297 (1982)
- Lippman, R.D.: Chemiluminescent measurement of free radicals and antioxidant molecular protection in living rat mitochondria. Exp. Gerontol. 15, 339 (1980)
- Lózsa, A.: A lipoproteinek fixálásának jelentősége agarose elektrophorézis után. Kísérlet. Orvostud. 26, 569 (1974)
- Lye, M.: Distribution of body potassium in healthy elderly subjects. Gerontology 27, 286 (1981)
- Makinodan, T., Kay, M.M.B.: Age influences on the immune system. In: Kungel, M.G., Dixon, F.J. Advances of immunology Academic Press N.Y. pp. 287 (1980)
- Makinodan, T., James, S.J., Inamizu, T., Mei-Ping Chang: Immunologic basis for susceptibility to infection in the aged. Gerontology 30, 279 (1984)
- Mark, D.H., Weckslar, M.E.: Immunologic studies of aging VIII. No change in cyclic nucleotides concentration in T lymphocytes from old humans despite their depressed proliferative response. J. Immunol. 129, 2323 (1982)
- Mascart Lemon, F., Delespesse, G., Servais, G., Kunstler, M.: Characterization of immunoregulatory T lymphocytes during aging by monoclonal antibodies. Clin. exp. Immunol. 48, 148 (1982)

- Masoro, J.E. (ed) CRC Handbook of physiology in aging.
CRC press, Boca Raton, pp. 502 (1982)
- McCay, C.M., Crowell, M.F., Maynard, L.A.: The effect of retarded growth upon the length of the life span and upon ultimate body size. *J. Nutr.* 10, 63 (1935)
- McDevitt, M.O.: The cellular localisation of antigen. *J. reticuloendothel. Soc.* 5, 256 (1968)
- McDevitt, M.O., Benacerraf: Genetic control of specific immune responses. *Advances Immunol.* 11, 31 (1969)
- McDonagh, E.W., Rudolph, C.J., Cheraskin, E.: Serum cholesterol and the aging process. *Med. Hypothesis.* 7, 685 (1981)
- McPherson, K., Healy, M.J.R., Flynn, F.V., Piper, K.A.J., Garcia-Webb, R.: The effect of age sex and other factors on blood chemistry in health. *Clin. Chim. Acta* 84, 373 (1978)
- Means, A.R., Tash, G.S., Chafouleas, J.G.: Physiological implications of the presence, distribution and regulation of calmoduline in eukaryotic cells. *Physiol. Rev.* 62, 1 (1982)
- Medvedev, Zh.A.: Repetition of molecular genetic information as a possible factor in evolutionary changes of life span. *Exp. Gerontol.* 7, 227 (1972)
- Meneely, G.R., Hayssel, R.M., Ball, R.O.T., Weiland, R.L., Cosimer, A.R., Constantidines, C., Meneely, E.V.: Analyses of factors affecting body composition determined from potassium content in 915 normal subjects. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 110, 271 (1963)
- Milne, J.S., Williamson, J.: Hemoglobin, hematocrit, leukocyte count and blood grouping in older people. *Geriatrics* 27, 118 (1972)

- Mineur, Ph, Faure, L., Burger, A.G., Vallotton, M.B.: Functions endocrine du grand age (70 ans et plus) Sweiz. Med. Wsch. 113, 1310 (1983)
- Mitchinson, N.A.: The immunologic capacity of antigen taken up by peritoneal exudate cells. Immunology 16, 1 (1969)
- Moore, F.D., Olesen, K.M., McMurrey, J.D., Parker, H.V., Ball, M.R., Boyden, L.M.: The body cell mass and its supporting environment. Body composition in health and disease (Samders, Philadelphia) pp. 535 (1963)
- Morgan, N.G., Charest, R., Blackmore, P.F., Exton, J.H.; Potentiation of α_1 adrenergic responses in rat liver by a cAMP dependent mechanism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 4208 (1984)
- Mottola, C., Romeo, D.: Calcium movement and membrane potential changes in early phase of neutrophil activations by PMA: a study with ion selective electrodes. J. Cell Biol. 93, 129 (1982)
- Naccache, P.H., Showell, H.J., Becker, E.L., Sha'afi, R.I.: Involvement of membrane calcium in the response of rabbit neutrophils to chemotactic factors as evidenced by the fluorescence of chlorotetracycline. J. Cell. Biology 83, 179 (1979)
- Nagel, J.E., Pyle, R.S., Chrest, F.J., Adler, W.: Oxidative metabolism and bactericidal capacity of polymorphonuclear leukocytes from normal young and aged adults. J. Gerontol. 37, 529 (1982)
- Nathan, C.F., Arnich, B.A., Murray, M.W., De Santis, N.M., Cohn, Z.A.: Tumor cell antioxidant defenses. Inhibition of the glutathione redox cycle enhances macrophage mediated cytotoxicity. J. Exp. Med. 153, 766 (1981)

- Nathan, D.G., Pionelli, S., Commis, J.F., Gardner, F.M., Limavro, A.L.: The effect of androgens on some aspects of body composition and erythropoiesis in octogenarian males. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 110, 965 (1963)
- National Diabetes Data Group: Classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 28, 1039 (1979)
- Nicholson, J., Gartside, P.S., Siegel, M., Spencer, W., Steiner, P.M., Glueck, C.J.: Lipid and lipoprotein distributions in octo- and nonagenarians. *Metabolism* 28, 51 (1979)
- Nordstrom, J.W.: Trace mineral nutrition in the elderly. *Ann. J. Clin. Nutr.* 36, 788 (1983)
- O'Flynn, K., Lynch, D.C., Tatham, P.E.R.: The effect of mitogenic lectins and monoclonal antibodies on intracellular free calcium concentration in human T lymphocytes. *Biochem. J.* 219, 661 (1984)
- Orgel, L.E.: The maintenance of the accuracy of protein synthesis and its relevance to aging. *Proc. nat. Acad. Sci (Wash)* 49, 517 (1963)
- Österlind, P.O., Alafzoff, I., Löfgren, A.Ch., Marklind, S., Nyström, L., Sandman, P.O., Steen, B., Winblad, B.: Blood components in an elderly population. *Gerontology* 30, 247 (1984)
- Pace, N., Rathbun, E.N.: Studies on body composition III: The body water and chemically combined nitrogen in relation to fat content. *J. biol. Chem.* 158, 685 (1945)
- Pace-Asciak, C.R., Carrara, M.C., Rangaraj, G., Nicolau, K. C.: Enhanced formation of PGI₂, a potent hypotensive substance, by aortic rings and homogenates of the spontaneously hypertensive rat. *Prostaglandins* 15, 1005 (1978)

- Paglia, D.E., Valentine, W.N.: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70, 158 (1967)
- Palmblad, J., Haak, A.: Aging does not change blood granulocyte bactericidal capacity and levels of complement factors 3 and 4. *Gerontology* 24, 381 (1978)
- Papp, L., Kovács, Z., Fülöp, T., Wórum, I.: A grafit kemencés atom emissziós spektrometriás (GRAFS) módszer alkalmazhatóságának vizsgálata kis mennyiségű humán biológiai folyadékok nyomelem tartalmának meghatározásához. Szinképelemző Vándorgyűlés, Eger (1985)
- Pearl, L.: The rate of living. Knopf A.A., N.Y. (1928)
- Perkins, E.M.: Phagocytic activity of aged mice. *J. reticuloendothel. Soc.* 9, 642 (1961)
- Petroski, R.J., Naccache, P.M., Becker, E.L., Sha'afi, R. F.: Effect of chemotactic factors on calcium levels of rabbit neutrophils. *Am. J. Physiol.* 237, 243 (1979)
- Piassik, M.T., Babick, M., Rush, M.E.: Calmodulin stimulation and calcium regulation of smooth muscle adenylate cyclase activity. *J. Biol. Chem.* 256, 10913 (1983)
- Pick, E., Keisari, Y.: A simple colorimetric method for the measurement of H_2O_2 produced by cells in culture. *J. Immunol. Meth.* 38, 161 (1980)
- Pionelli, D.G., Nathan, J.F., Cumis, F.M., Gardner: The relationship of total red cell volume to total body water in octogenarian males. *Blood* 19, 89 (1962)
- Pryor, W.A. (ed) Free radicals in biology. Academic Press New York (1981)
- Quie, P.G.: Perturbation of the normal mechanisms of intra-leukocytic killing of bacteria. *J. Inf. Dis.* 148, 189 (1983)

- Ragsdale, C.G., Arend, P.W.: Loss of Fc receptor activity after culture of human monocytes on surface bound immune complexes. Mediation by cyclic nucleotides. J. Exp. Med. 151, 32 (1980)
- Reed, A.H., Cannon, D.C., Winkelman, J.W., Bhasin, Y.P., Henry, R.J., Pileggi, V.J.: Estimation of normal ranges from a controlled sample survey I. Sex- and age-related influence on the SMA 12/60 Screening group of test. Clin. Chem. 18, 57 (1972)
- Reiss, V., Gershon, D.: Rat liver superoxide dismutase: Purification and age-related modifications. Env. J. Biochem. 63, 617 (1976)
- Robert -Thompson, I.C., Whittingham, S., Youngshaigund, V.: Aging, immune response and mortality. Lancet ii, 368 (1974)
- Roth, G.S.: Hormone action during aging: alterations and mechanisms. M.A.D. 9, 475 (1979)
- Roth, G.S.: Hormone receptor changes, during adult hood and senescence: significance for aging research. Fed. Proc. 38, 1910 (1979)
- Rowley, J.J., Buchanan, H., Mackay, I.R.: Reciprocal change with age in antibody to extrinsic and intrinsic antigens. Lancet ii, 24 (1968)
- Röschlau, P., Berut, E., Gruber, W.: Enzymatic determination of total cholesterol in serum. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12, 226 (1974)
- Rubensten, M.A., Butter Jr. W.P., Werner, S.C.: Progressive decrease in serum triiodothyronine concentrations with human aging: Radioimmunoassay following extraction of serum. J. Clin. Endocrinol. Metab. 37, 247 (1973)

- Samojarski, T.: Central neurotransmitter substances and aging a review. *J. Amer. Geriatr. Soc.* 25, 337 (1977)
- Santa, T., Sumki, A., Hagashi, M., Yasni, T., Eguchi, T., Kato, E.: Mechanism of age related changes in renin and adenocortical steroids. *J. Amer. Geriatr. Soc.* 28, 210 (1980)
- Schneider, E.C.: infectious disease in the elderly. *Ann.Int. Med.* 98, 385 (1983)
- Schröder, M.A., Balassa, J.J., Tipton, I.M.: Abnormal trace métal in men:chronium. *J. Chron. Dis.* 15, 941 (1960)
- Schultz, G., Aktories, K., Böhme, E., Genser, R., Jacobs, K.M.: Signal transformation mediated by membrane receptors for hormones and neurotransmitters. *Mol. Immunol.* 19, 1207 (1982)
- Scribner, D.J., Fahrney, D.: Neutrophil receptors for IgG and complement: their role in the attachment and ingestion phases of phagocytes. *J. Immunol.* 116, 892 (1976)
- Scully, S.P., Segel, G.B., Lichtman, M.A.: Calcium exchange and ionized cytoplasmic calcium in resting and activated human monocytes. *J. Clin. Invest.* 74, 589 (1984)
- Selye, M.: *The stress of life*. McGraw-Hill, N.Y. (1956)
- Selye, M., Prioseschi, P.: Stress theory of aging. In: *Aging, some social and biological aspects*. Shock, N.W. (ed) Amer. Ass. Adv. Sci. Washington D.C. p. 261 (1960)
- Selye, M., Tuchweber, B.: Stress in relation to aging and disease. In: *Hypothalamus, Pituitary and Aging*. Everitt, A.V. and Burgess, J.A. (eds) Thomas Springfield p. 553 (1976)
- Shock, N.W., Watkin, D.M., Yiengst, M.J., Norris, A.H., Yaffney, D.F., Gregerman, R.I., Falcone, J.A.: Age differences in the water content of the body as related to basal oxygen consumption in males. *J. Gerontol.* 18, 1 (1963)
- Schneider, E.L., Reed, J.D.: Life extension. *N.Engl.J.Med.* 312, 1159 (1985)

- Simchowitz, L., Spilberg, I., Atkinson, J.P.: Evidence that the functional responses of human neutrophils occur independently of transient elevations in cyclic AMP levels. *J. Cycl. Nucl. Prot. Phosphor. Res.* 9, 35 (1983)
- Smolen, J.E., Korchak, M.M., Weissmann, G.: Increased levels of cAMP in human PMNLs after surface stimulation. *J. Clin. Invest.* 65, 1077 (1980)
- Stabinsky, Y., Bar-Shavit, Z., Tidkin, M., Goldman, R.: On the mechanism of action of the phagocytosis stimulating peptide tuftsin. *Mol. Cell. Biochem.* 30, 71 (1980)
- Steel, K., Williams, F., Fairbank, M., Knox, K.: Laboratory screening in the evaluation and placement of geriatric patients. *J. Am. Geriatr. Soc.* 27, 538 (1974)
- Strehler, B.L.: Molecular biology of aging. *Naturwissenschaften* 56, 57 (1969)
- Szabó, T., Kovács, L.: A laboratóriumunkban módosított trijódthyronin felvételi teszttel szerzett tapasztalatainkról. *Orv. Hetil.* 121, 2929 (1980)
- Szabó, T., Kovács, L., Varga, J.: A tiroxin radioimmunassay kidolgozása során szerzett tapasztalatink. *Kísérlet. Orvostud.* 33, 217 (1981)
- Szilárd, L.: On the nature of the aging process. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash)* 45, 30 (1959)
- Takeda, R., Mosimoto, S., Uchida, K., Miyamori, I., Hoshiba, Y.: Effect of age on plasma aldosterone response to exogenous angiotensin II in normotensive subjects. *Acta Endocrin. kbh* 94, 552 (1980)
- Tame, C.F., Walford, R.L.: Alterations in cyclic nucleotides and cyclase specific activities in T-lymphocytes of aging normal humans and patients with Down's syndrome. *J. Immunol.* 125, 1665 (1980)

- Tanabe, A., Kobayashi, Y., Usui, T.: Enhancement of neutrophil oxygen consumption by chemotactic factors. *Experimentia* 39, 604 (1983)
- Tasman-Jones, C.: Zinc deficiency states. *Adv. Int. Med. Year Book Medical Publ.* p. 97 (1980)
- Turpin, G.: Le cholestérol á tout age? *Concours Medical* 104, 3569 (1982)
- Van Epps, D.E., Goodwin, J.S., Murphy, S.: Age dependent variations in polymorphonuclear leukocyte chemiluminescence. *Infect. Immunity*. 22, 57 (1978)
- Vermeulen, A., Reslypere, J.P., Shelfhont, W., Verdoulk, L., Rubens, R.: Adrenalcorticalfunction in old age: response to acute ACTH stimulation. *J. clin. Endocr.* 54, 187 (1982)
- Verzár, F.: Veränderungen der thermoelastischen Kontraktion von Schnenfasern im Altern. *Helv. Physiol. Acta* 13, 64 (1955)
- Verzár, F.: Das Alterns des Kollagens. *Helv. Physiol. Acta* 14, 207 (1956)
- Verzár, F.: Demonstration of the increase of the binding of hydroxyproline in the collagen of the skin with age. *Gerontologia* 4, 104 (1960)
- Wahlefeld, A.V.: In: Bergmayer, M.N. (ed) *Methoden der enzymatischen Analyse*. 3 auflage Bd. II. Verlag Chemie Weinheim pp. 1878 (1974)
- Walford, R.L.: *The immunological theory of aging*. Munksgaard, Copenhagen pp. 248 (1969)
- Walford, R.L.: Antibody diversity, histocompatibility system, disease states and aging. *Lancet* ii, 1226 (1970)

- Walford, R.L.: The immunologic theory of aging. Current status
Fed. Proc. 33, 2020 (1974)
- Walford, R.L.: La vie la plus longue. Ed. Robert Laffont
Paris pp. 269 (1983)
- Weksler, M.E.: Senescence of the immune system. Med. Clin.
N. Amer. 67, 263 (1983)
- Werner, W.M., Rey, H.G., Wielinger, M.: Z. Analyt. Chem.
252, 224 (1970)
- Wórum, I., Csongor, J., Szabó, T., Lőcsey, L., Kakuk, Gy.:
Simultane Anwendung von 4 Radioisotopen für Flüssigkeits-
raum bestimmungen by hämodialysierten Patienten in
Watschinger 3. Donau symposium für Nephrologie, Binderagel,
Freidberg, pp. 143 (1979)
- Wórum, I., Fülöp, T., Csongor, J., Fóris, G., Leővey, A.:
Interrelation between body composition and endocrine
system in healthy elderly. Mech. Age. Dev. 28, 430
(1984)
- Yamamura, M., Boler, J., Valdimarsson, H.: A ⁵¹Chromium
release assay for phagocytic killing of Candida albicans.
J. Immunol. Methods. 13, 227 (1976)
- Yiengst, M.J., Shock, N.W.: Blood and plasma volume in
adult males. J. Appl. Physiol. 12, 195 (1962)
- Young, E.A.: Nutrition, Aging and the aged. Med. Clin. N.
Amer. 67, 295 (1983)
- Zhang, S.R., Shi, Q.M., Ho, R.J.: Cyclic AMP lowering
Mediator of Insulin. J. Biol. Chem. 258, 6471 (1983)
- Zs.Nagy, I.: The role of membrane structure and function in
cellular aging: a review. Med. Age. Dev. 9, 237 (1979)